Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamte

Germany. K. Gesundheitsamt

by Google

ARTES VERITAS SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM CIRCUMSPICE

Hy
6/4
G

ARBEITEN

AUS DEM

KAISERLICHEN GESUNDHEITSAMTE.

(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes.)

DREIUNDDREISSIGSTER BAND.

MIT 9 TAFELN UND IN DEN TEXT GEDRUCKTEN ABBILDUNGEN.

BERLIN.
VERLAG VON JULIUS SPRINGER.
1910.

Inhalts-Verzeichnis.

Erstes Heft. Ausgegeben im November 1909. Seite

Zweites Heft. Ausgegeben im Januar 1910.

Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten.

Von

Dr. Eduard Reichenow,

wissenschaftl. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

(Hierzu Tafel I u. II.)

Einleitung.

In den auszementierten Teichen auf dem Gelände des Kaiserlichen Gesundheitsamtes, die längere Zeit trocken gelegen hatten, traten bei ihrer Füllung im Frühjahr 1908 große Massen von Haematococcus pluvialis auf. Zunächst das Wasser lebhaft rot färbend, bildeten sie beim Übergange in das „Palmellastadium" bald eine kräftige rote Schlammschicht am Boden der Behälter und boten so ein reichliches Material für die nachfolgend mitzuteilenden Untersuchungen, die auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn Regierungsrat Prof. Schuberg ausgeführt wurden[1]).

Die Gelegenheit zur Untersuchung des Flagellaten war um so erwünschter, als zu hoffen ist, daß jede Förderung unserer Kenntnisse von den Flagellaten auch der Erforschung der wichtigen parasitischen Formen zugute kommen dürfte. Die leichte Züchtbarkeit des Haematococcus macht ihn besonders geeignet, uns über gewisse Inhaltsstoffe der Zelle Klarheit zu verschaffen und damit auch in das Verständnis des Baues der Bakterienzelle etwas tiefer einzudringen, wie ich in dem das „Volutin" behandelnden Abschnitte meiner Arbeit nachzuweisen hoffe.

Das Ausgangsmaterial für alle Untersuchungen gewann ich in der Weise, daß ich große Mengen des in den Teichen befindlichen Schlammes in flachen Schalen langsam eintrocknen ließ. Dieser Schlamm bestand zum überwiegenden Teile, stellenweise fast ganz aus Haematococcus-„Palmellen". Wie bereits den ältesten Untersuchern (Flotow 1844, Cohn 1850, Braun 1851) bekannt war, kann man ja dieses eingetrocknete Material jederzeit durch Neubefeuchtung zur Weiterentwicklung anregen.

---

[1]) Über einen Teil der wichtigsten Ergebnisse wurde in der Sitzung der Gesellschaft Naturforschender Freunde am 9. Februar 1909 kurz berichtet (Sitzungsber. Ges. Naturf. Fr. 1909, Nr. 2).

Zur Einführung sei das Wichtigste von dem, was über die Entwicklung des Haematococcus pluvialis bekannt ist, in kurzen Worten meinen Beobachtungen vorangestellt. Hierbei schließe ich mich an die Ausführungen Hazens (1899) an, der die älteren Untersuchungen kritisch zusammenfaßt und durch eigene Beobachtungen ergänzt.

Wenn wir trockene Palmellen des Haematococcus mit Wasser übergießen, so können wir nach wenigen Stunden den Beginn von Teilungen in ihnen beobachten. Der Inhalt teilt sich in zwei, oder in schneller Folge in vier oder acht Sprößlinge. Die äußere Zellmembran platzt an einer Seite auf, eine innere wird durch Wasseraufnahme gedehnt und so wird den Sprößlingen Platz geschaffen, sich weiter auszubilden. Wie Hazen richtig beobachtet hat, bilden sie die Geißeln und eine zarte Hülle schon vor dem Ausschlüpfen aus der mütterlichen Membran aus. Mit dem Heranwachsen der frei gewordenen Schwärmer nimmt auch die zarte, sie umgebende Hülle an Mächtigkeit zu, und es werden feine protoplasmatische Fortsätze des Zelleibes in ihr sichtbar. Die Teilung der Schwärmer ist gewöhnlich nur in den frühen Morgenstunden zu beobachten und wird von allen neueren Forschern mit Ausnahme Wollenwebers (1908) als Querteilung beschrieben. Der ersten Teilung kann unmittelbar eine zweite und dritte folgen, so daß zwei, vier oder acht Zellen in der gemeinsamen Hülle gebildet werden. Unter unbekannten Bedingungen schreitet die Teilung noch weiter fort, es entstehen 16 oder 32 Schwärmer, von Braun Mikrogonidien genannt, die sich durch ihre Kleinheit, abweichende Gestalt und anscheinendes Fehlen einer Hülle von den gewöhnlichen Schwärmern unterscheiden und mit großer Geschwindigkeit durch das Wasser eilen. Sie sind wahrscheinlich als Gameten zu betrachten, obgleich eine Kopulation noch nicht beobachtet wurde.

Gewöhnlich gehen die Schwärmer nach Verlauf einiger Wochen wieder in den Dauerzustand über.

Diese unbewegliche Form kann man nicht als Cyste bezeichnen, wenn sie mit solchen auch die Bedeutung zur Erhaltung der Art bei Austrocknung gemeinsam hat; denn sie wächst heran und vermehrt sich, so lange es die Lebensbedingungen erlauben, weiter durch Teilung. Aus dem gleichen Grunde ist der Name Ruhezelle nicht angebracht. Morphologisch ähnelt sie der Zygote der Chlamydomonasarten, entsteht jedoch — wenigstens sicherlich in der Regel — nicht durch Kopulation von Gameten wie diese, sondern aus einem einzelnen Schwärmer. Biologisch entspricht sie jenen geißellosen Generationen von Chlamydomonas, die man gewöhnlich als Palmellastadium bezeichnet. Ich will die Form im folgenden gleichfalls als Palmella bezeichnen und schließe mich damit in der Deutung des Wortes Oltmanns (1904) an: „Für mich handelt es sich bei den Palmellen um abgerundete Zellen, welche sich, meist in mehr oder weniger dicke Gallerte eingebettet, durch Teilung vermehren, und welche in den Entwicklungsgang von Algen aus den verschiedensten Verwandtschaftskreisen können eingeschaltet werden."

Über den für unsern Flagellaten gewählten Namen „Haematococcus pluvialis" möchte ich noch ein paar Worte anfügen. In einigen neueren Arbeiten ist der Name „Sphaerella lacustris" angewandt worden, da man die 1824 benannte Sphaerella nivalis Sommerfeldt zu Haematococcus stellte. Doch hat Wille (1903), dem sich auch

Wollenweber (1908) anschließt, den Nachweis erbracht, daß die genannte Art eine echte Chlamydomonas ist. Damit bleibt der Gattungsname Haematococcus in seinem Recht.

I. Allgemeine Morphologie des Haematococcus.

Als ich meine Untersuchungen im wesentlichen abgeschlossen hatte, wurde mir die Arbeit Wollenwebers (1908) „Untersuchungen über die Algengattung Haematococcus" bekannt, in der der Forscher sehr ausführlich die Morphologie einer von ihm Haematococcus droebakensis genannten Art, sowie die des Haematococcus pluvialis beschreibt. Um bereits Gesagtes nicht zu wiederholen, verweise ich auf diese Arbeit und will zu den Untersuchungen Wollenwebers hier nur einige Ergänzungen hinzufügen.

Wollenweber hat (1907, 1908) zuerst das von allen früheren Beobachtern vermißte Stigma sowie die gleichfalls vermißten, über den ganzen Zellkörper verteilten zahlreichen kontraktilen Vakuolen (1908) bei Haematococcus nachgewiesen. Diese Befunde kann ich bestätigen, zu ihrer genauen Beschreibung vonseiten Wollenwebers habe ich nichts hinzuzufügen.

Einen sehr eigenartigen Bau hat der genannte Forscher bei dem Chromatophor gefunden. Nach seiner Angabe bildet das oberflächlich gelagerte Chlorophyll ein System von Röhren, die ein Mikrozellenwerk bilden. Da Wollenweber diese Anschauung an 70 μ großen Schwärmern gewonnen hat und mir solche nicht zur Verfügung standen, so kann ich zu seinen Befunden nicht Stellung nehmen. Mir erschien das Chlorophyll in die Wabenwände des Protoplasma eingelagert und zwar in einzelne Wände in größeren Massen, so daß seine Verteilung netzförmig mit einzelnen kräftigeren Strängen erschien. Ein gleiches Aussehen beobachtete auch Wille (1903), er spricht von einem netzförmigen Chromatophor. Zahlreiche eingelagerte Stärkekörner können den Bau körnig erscheinen lassen [1]).

Der mittlere Teil der Zelle sowie ein kleiner Teil der Oberfläche an der Geißelbasis ist stets chlorophyllfrei. An den Stellen, an denen Pyrenoide, die in wechselnder Anzahl vorhanden sind, liegen, ist die chlorophyllführende Schicht verdickt und nach innen vorgebuchtet (vergl. den optischen Durchschnitt Fig. 3—6).

Die Zellhülle kann sehr verschieden weit von dem Zellkörper abstehen. Wollenweber gibt an, daß sie in nährstoffarmen Medien weiter abstehe, als in nährstoffreichen. Ich kann das bestätigen. In zwei bis drei Wochen alten Leitungswasser-

[1]) Nachträglich gibt Wollenweber in einem Eigenbericht über seine Untersuchungen (Arch. f. Hydrobiol. u. Planktonk. Bd. IV, 1909) eine genauere Beschreibung des Chromatophorenbaus, aus der mir nunmehr die Übereinstimmung unserer Befunde hervorzugehen scheint: „Man denke sich einen Würfel nicht massiv, sondern so dargestellt, daß die Stelle der 12 Kanten zylindrische Röhrchen oder hohle Drähte einnehmen. Letztere sind dann die grünen Chlorophyllröhrchen, der von ihnen umschlossene Würfelraum ist von Zellplasma erfüllt zu denken. Dieses Element (Mikrozelle) des Chromatophors kann anstatt würfelig auch irgendwie polyedrisch sein . . . Daß die Röhrchen von Mikrozellen . . . . auch häufig zu Lamellen zusammengeflossen (von mir gesperrt) erscheinen, liefert den Beweis, daß sie nicht im mathematischen Sinne als Elemente des Chromatophors gedeutet werden können." Wenn das Chlorophyll den Wabenwänden des Protoplasmas beiderseitig aufgelagert ist und an einem großen Objekt das Protoplasma als trennende Schicht erkennbar wird, so muß wohl ein Bild, wie das von Wollenweber geschilderte, hervorgerufen werden.

kulturen betrug Länge und Breite der Hülle mehr als das Doppelte des Zellkörpers, während z. B. in Erbsenwasser die Hülle nur wenig von der Zelle abstand, eine Erscheinung, auf die ich bei der Beschreibung der Teilungsvorgänge noch zurückzukommen habe. Am besten veranschaulicht den Zusammenhang von Hüllweite und Stärke der Nährlösung der Verlauf einer frisch angesetzten Kultur in Molischs Nährlösung. Die Figuren 3—5 geben die wachsende Ausdehnung der Hülle bei fortschreitendem Verbrauch an Nährstoffen zu erkennen, in Fig. 6 liegt die Hülle wieder enger an, da sie das Bild eines Flagellaten wiedergibt, das einer bereits in frische Nährlösung überimpften Kultur entstammt.

Die Protoplasmafortsätze der Zelle, die sich dicht unter der Oberfläche der Hülle in zwei Äste spalten, waren in meinen Kulturen stets äußerst fein. Gröbere Fortsätze, wie sie Wollenweber in seiner Textfigur 10a abbildet, habe ich nie gesehen. Sie scheinen um so zarter zu sein, je weiter abstehend die Hülle ist; bei den Schwärmern der Leitungswasserkulturen sind sie oft gar nicht nachweisbar.

Im Innern der Zelle, zwischen der chlorophyllführenden Schicht und dem Kern, beschreibt Wollenweber große Leibesvakuolen. Sie sind das einzige, was man an der lebenden Zelle von der Protoplasmastruktur beobachten kann. Fixiertes und gefärbtes Material hat der Forscher nicht untersucht. Einige vorgenommene Färbeversuche mißlangen, wie er angibt, infolge der Empfindlichkeit der Zelle. Ich fand dagegen, daß die Schwärmer sehr leicht gute Präparate ergeben, während allerdings die Palmellen für Fixierungs- und Färbungsmittel fast undurchlässig sind. Zwei einfache Methoden zur Herstellung gefärbter Präparate der Schwärmer stellten sich als sehr gut brauchbar heraus.

1. Um große Mengen gefärbten Materials zu erhalten, wandte ich eine mir von Herrn Regierungsrat Schuberg vorgeschlagene Fixierungsmethode an (Textfig. 1). Aus dem Kulturglase hob ich mit einem an der Einflußöffnung nach oben umgebogenen Heber Flüssigkeit ab und ließ sie durch ein Fließpapierfilter laufen. Wenn sich in dem Filter genügend viele Schwärmer angesammelt hatten, wurde der Inhalt schnell, ehe das letzte Wasser den Trichter verlassen hatte, in einem Uhrschälchen mit Jodalkohol von hellbrauner Farbe abgespült. Der ganze Inhalt des Schälchens wurde in ein Reagensgläschen übertragen und darin weiter behandelt. Die Umbiegung am Ende des Hebers verhindert das Eindringen von Schlammteilchen, so daß das Material zur Paraffineinbettung geeignet ist.

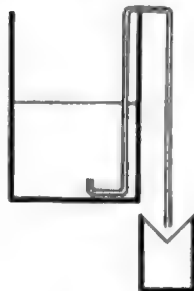


Fig. 1.

2. Deckglaspräparate stellte ich nach Schaudinns Methode her, indem ich ein zwischen die Schenkel einer Pinzette geklemmtes Deckglas die Oberfläche der Kulturflüssigkeit flach berühren und dann flach auf ein heißes Gemisch von 2 T. Sublimat konz., 1 T. Alkohol abs. und einigen Tropfen Eisessig (Schaudinns Gemisch) fallen ließ. Auch wenn die Oberfläche der Kulturflüssigkeit bakterienfrei ist, erreicht man bei einiger Geschicklichkeit, daß zahlreiche Schwärmer am Deckglase haften bleiben.

Von den angewandten gebräuchlichen Färbemitteln gab die klarsten Bilder Überfärbung mit Delafields Hämatoxylin und nachfolgende Entfärbung mit salzsaurem Alkohol + Glyzerin.

An der gefärbten Zelle offenbart sich deutlich der alveoläre Bau des Protoplasmas (Fig. 17—19 u. a.). In der oberflächlichen Schicht ist das Protoplasma dichter, sein Bau ist kleinwabiger, nach dem Innern zu ist er lockerer und bildet in der Umgebung des Kernes einige größere Vakuolen, dieselben, die, wie oben erwähnt, auch an der lebenden Zelle bemerkbar sind.

Der Zellkern mit seinem Nukleolus ist, wie auch Wollenweber angibt, in der lebenden Zelle sehr gut erkennbar, wenn er nicht durch zu große Mengen Hämatochrom verdeckt wird. Von seinem feineren Bau ist im Leben gewöhnlich nur kurz vor der Teilung etwas zu sehen; er soll in dem diesen Vorgang behandelnden Abschnitte beschrieben werden. Im gefärbten Präparat zeigt der Kern ein sehr regelmäßiges achromatisches Netz- (oder Waben-) werk, in dessen Kanten Chromatinbrocken eingelagert sind. Die Chromatinmengen im Kernretikulum sind außerordentlich wechselnd, in manchen Kernen sind die Brocken sehr groß und deutlich (Fig. 18, 19), in anderen fehlen sie fast vollständig (Fig. 17, 29). Im allgemeinen erscheinen die kurz vor der Teilung stehenden, sowie die eben aus einer Teilung hervorgegangenen Zellen am chromatinreichsten. Der — ausgenommen während der Teilung — stets nachweisbare Nukleolus erweist sich durch seine Färbbarkeit als Chromatinnukleolus. Er erscheint meist strukturlos. Wenn Einzelheiten des Baues erkennbar sind, dann scheinen sie in Beziehung zur Teilung zu stehen; sie seien deshalb im Zusammenhange mit dieser besprochen.

Auf zwei Arten von Einschlüssen im Protoplasma der Haematococcuszelle ist Wollenweber nicht eingegangen: auf das Hämatochrom und das Volutin. Da beide ein großes Allgemeininteresse bieten, seien sie in besonderen Abschnitten eingehend behandelt.

II. Untersuchungen über das Hämatochrom.

a) Übersicht.

Die Haupteigentümlichkeit des Haematococcus, diejenige, der er auch seinen Namen verdankt, bildet der rote Farbstoff, der bei den Formen, die wir gewöhnlich in der Natur antreffen, meist die ganze Zelle ausfüllt. Er mußte auch in erster Linie die Aufmerksamkeit der Forscher fesseln.

Kaum ein anderer Organismus zeigt diese Farbe in so lebhafter Ausbildung, doch ist er, in sehr verschiedenem Grade entwickelt, bei zahlreichen Formen aus den verschiedensten Gruppen beobachtet worden.

Inwieweit der bei den verschiedensten Algen, Flagellaten und Bakterien gefundene rote Farbstoff mit dem des Haematococcus übereinstimmt, läßt sich vom Standpunkt unserer heutigen Kenntnisse aus noch nicht entscheiden, da chemische Analysen bisher wenig angestellt worden sind. Für manche Arten läßt sich jedoch von biologischen Gesichtspunkten aus eine Verwandtschaft des roten Farbstoffes annehmen. Diese Formen mögen im folgenden Erwähnung finden.

Am besten untersucht ist der rote Farbstoff bei Haematococcus selbst. Von Cohn (1850) wurde er mit dem Namen „Hämatochrom“ belegt und später (1887) als ein scharlachrotes, in Alkohol und Äther lösliches, durch Jod sich blau färbendes Öl

bezeichnet und als gleichartig mit dem roten Farbstoffe anderer Süßwasseralgen angesehen. Auch nahm Cohn an, daß es in genetischer Beziehung zum Chlorophyll stände. Eine eingehende Untersuchung erfuhr das Hämatochrom durch Zopf (1895). Ihm gelang es, in einem alkoholischen Auszuge aus Haematococcuspalmellen drei Farbstoffe zu trennen: Chlorophyll, gelbes Karotin, rotes Karotin. Da gelbes Karotin ein regelmäßiger Begleiter des Chlorophylls ist, so ist das rote als das dem Haematococcus eigentümliche zu betrachten und mit dem Namen Hämatochrom zu belegen. Es unterscheidet sich von gelben Karotinen durch Farbe, Löslichkeit und spektroskopisches Verhalten, worüber bei Zopf nachzulesen ist. Früher als den Haematococcus hat Zopf (1892) die Alge Trentepohlia auf ihren roten Farbstoff untersucht und ist dabei zu dem Ergebnis gekommen, daß es sich hier um ein gelbes Karotin handelt, dem somit der Name Hämatochrom nicht zukommt. Dieses Ergebnis Zopfs steht im Widerspruch zu älteren Untersuchungen Rostafinskis (1881), der bei der Extraktion des Farbstoffes von Trentopohlia neben einem gelben noch ein rotes Pigment fand. Der letztgenannte Forscher beobachtete, daß der ausgezogene Farbstoff im Lichte ergrünte und zog daraus den Schluß: „Das Chlorophyll ist also im Verhältnis zu dem roten Pigmente ein Oxydationsprodukt desselben.“ Demgegenüber fand Zopf, daß die Farblösung im Lichte völlig entfärbt wurde. Das Ergrünen ist also wohl auf bereits in der Lösung vorhanden gewesenes Chlorophyll zurückzuführen. Ein spektroskopisch gleiches Verhalten, wie bei dem Karotin des Haematococcus fand Zopf noch bei dem von Micrococcus rhodochrous ausgeschiedenen roten Farbstoffe und merkwürdigerweise auch bei dem aus den roten Flügeln des Pappelkäfers Lina populi und aus Diaptomusarten gewonnenen Pigment[1]).

Schließlich seien noch die Untersuchungen Krukenbergs an Euglena sanguinea erwähnt. Im alkoholischen Auszug waren wie bei Haematococcus außer Chlorophyll ein gelber und ein roter Farbstoff nachzuweisen; ob sie mit den bei Haematococcus gefundenen Karotinen übereinstimmen, das müssen nähere Untersuchungen entscheiden.

Geeignet, etwas größere Klarheit in das noch so dunkle Gebiet zu tragen, ist die Betrachtung der biologischen Verhältnisse. Wenn wir unter Flagellaten und Algen des Süßwassers in den verschiedensten Gruppen neben der Hauptmasse von grünen Formen rot gefärbte finden, wenn wir bei manchen Arten in bestimmten Entwicklungszuständen den roten Farbstoff auftreten sehen, so ist es von vornherein wahrscheinlich, daß gleichartige Ursachen in allen Fällen die Färbung bedingen, daß also der rote Farbstoff bei all diesen Arten einer gleichen Lebewelt die gleiche physiologische Bedeutung hat. Daß diese Annahme zutreffend ist, dafür werde ich im folgenden den Beweis erbringen. Vielleicht wird es sich einmal herausstellen, daß der physiologischen Übereinstimmung eine chemische entspricht; notwendig ist dies natürlich nicht, wie ja auch, um nur ein Beispiel anzuführen, das Paramylum, das bei den Euglenen die Stärke ersetzt, mit dieser chemisch nicht völlig übereinstimmt.

---

[1]) Zu dem letzterwähnten Befunde will ich bemerken, daß ich in alten Hämatococcuskulturen, die nur noch rote Palmellen enthielten, häufig Rotatorien auftreten sah, deren ganzer Körper (nicht nur der Darm) schön rosa gefärbt war. Solche Beobachtungen legen den Verdacht nahe, daß die Färbung der Copepoden und Rotatorien durch das Hämatochrom gefressener Flagellaten verursacht sei. Geeignete Fütterungsversuche würden diese Frage leicht entscheiden können.

b) Einfluß des Mediums.

Bei seinen Untersuchungen über das Stigma des Haematococcus hat Wollenweber (1907) beobachtet, daß der Flagellat bei länger fortgesetzter Kultur in Knops Nährlösung seinen Hämatochromgehalt vollständig verliert. Diese Tatsache, daß der in Regenwasser wie in Leitungswasser dauernd rot gefärbte Flagellat in einer Nährlösung ergrünt, beweist von vornherein, daß das umgebende Medium einen unmittelbaren Einfluß auf das Auftreten des Haematochroms ausübt. Da es sich bei der Knopschen Nährlösung um eine Flüssigkeit von genau bekannter Zusammensetzung handelt, so ist hiermit ein Weg eröffnet zur experimentellen Prüfung der Frage, welche Stoffe durch ihr Vorhandensein oder ihr Fehlen die Entstehung des Hämatochroms bewirken.

Erleichtert wurden diese Experimente noch dadurch, daß ich in einer noch einfacher zusammengesetzten Nährlösung, als die von Knop herrührende ist, ein gleiches Verhalten des Haematococcus beobachten konnte, das ist die von Molisch zur Kultur von Algen angegebene mit der folgenden Zusammensetzung:

0,2 g KNO_3
0,2 g K_2HPO_4
0,2 g $MgSO_4$
0,2 g $CaSO_4$
1000 g H_2O

In dieser Flüssigkeit gedeiht der Flagellat vorzüglich und vermehrt sich lebhaft, ohne jemals einen Zustand der Erschöpfung zu zeigen, wie eine von mir annähernd drei Vierteljahre durch regelmäßiges Überimpfen in frische Nährlösung fortgeführte Kultur beweist.

Die Veränderungen, die der Hämatochromgehalt bei der Kultur in Molischs Nährlösung erleidet, wird durch die Figuren 1—6 auf Tafel I veranschaulicht. Die Fig. 1—4, die in Abständen von je 24 Stunden gezeichnet sind, sowie 5, die nach einem Zeitraum von 48 Stunden folgt, lassen erkennen, daß vom ersten Tage an eine regelmäßige Abnahme des Hämatochroms erfolgt und daß die noch vorhandene Menge sich immer mehr im Mittelpunkte der Zelle zusammenballt.

Der Hämatochromgehalt ist nicht in allen gleichaltrigen Schwärmern genau gleich groß; die Figuren geben das Aussehen der Hauptmasse der Schwärmer wieder. Die Verminderung des Hämatochroms scheint in den ersten Tagen fast ausschließlich durch die Aufteilung bei der Vermehrung der Schwärmer und die fortschreitende Zusammenballung im Mittelpunkte der Zelle vor sich zu gehen. Die letzten Spuren des Farbstoffes sind noch lange in den Zellen zu beobachten und erst nach mehreren Wochen der Kultur ist der letzte Rest aus den Schwärmern verschwunden (Fig. 6).

Sehr zustatten kommt den Kulturversuchen der Umstand, daß die Palmellen beim Befeuchten selbst mit der nährstoffärmsten Flüssigkeit, sogar mit destilliertem Wasser, zur Schwärmerbildung schreiten, so daß eine Schwierigkeit dadurch, daß Haematococcus etwa in irgend einer Zusammensetzung von Nährstoffen gänzlich lebensunfähig wäre, niemals entstand. Natürlich gelangten solche Kulturen, in denen dem

Flagellaten die allernotwendigsten Nahrungsmittel mangelten, in einigen Tagen zum Stillstand.

Zunächst mußte mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß mehrere, sehr verschiedene Stoffe das Auftreten des Hämatochroms beeinflußten; es war daher zu prüfen: 1. ob im Leitungswasser ein Stoff vorhanden ist, der die Rotfärbung bewirkt, 2. ob in der Nährlösung von Molisch ein solcher Stoff fehlt oder anderseits ein Stoff darin enthalten ist, der den Schwund des Hämatochroms veranlaßt. Zu diesem Zwecke stellte ich eine Reihe von Kombinationen dar, über die die folgende Tabelle Aufschluß gibt.

Tabelle A.

Nr.	Datum	Zustand des Materials	Art des Versuchs	Einfluß auf das Hämatochrom
1, 2	2. 7. 08 9. 7. 08	Seit 7 (bezw. 6) Tagen trockene, ganz rote Palmellen	In Molischs Lösung	Vom 2. Tage an wachsendes Ergrünen der Schwärmer vom Rande her (vergl. Taf. I, Fig. 1—6). Nach mehreren Wochen allmähliches Wiederauftreten des Hämatochroms. Die gebildeten Palmellen nach etwa 2 Monaten wieder tief rot
3, 4	2. 7. 08 9. 7. 08	"	In Leitungswasser	Die meisten Schwärmer bleiben rot (Taf. I, Fig. 1) vorübergehend treten einige mit grünem Hofe auf (Taf. I, Fig. 2)
5	27. 7. 08	Trockene ganz rote Palmellen	Molischs Lösung ohne $CaSO_4$	Vom 2. Tage an wachsendes Ergrünen der Schwärmer
6	27. 7. 08	"	Molischs Lösung ohne $MgSO_4$	Desgl.
7	27. 7. 08	"	Molischs Lösung ohne K_2HPO_4	Schwärmer vom 2. Tage an mit meist schmalem grünem Hof. Am 10. Tage nur noch Palmellen vorhanden, diese ganz rot
8	27. 7. 08	"	Molischs Lösung ohne KNO_3	Mehrzahl der Schwärmer ganz rot, einige mit blassem, gelbgrünem, schmalem Saume
9	27. 7. 08	"	Die Molischs Lösung zusammensetzenden Salze in Leitungswasser gelöst	Ergrünen der Schwärmer wie sonst in Molischs Lösung
10	27. 7. 08	"	Molischs Lösung + Eisenchlorid (0,05 ccm einer 1%igen Lösung zu 150 ccm der Nährlösung)	Wie oben
11	27. 7. 08	"	Desgl. (0,2 ccm einer 1%igen Lösung)	Wie oben [Kultur schwächer als Nr. 10]
12—16	29. 7. 08	"	Wiederholung der Versuche 5—9	Übereinstimmend mit den Ergebnissen von Nr. 5—9

Aus der Tabelle geht hervor, daß alle entscheidenden Versuche zur sicheren Vermeidung von Irrtümern wiederholt worden sind.

Richten wir unsere Aufmerksamkeit zunächst auf die Kulturen 5—8, bei denen je eines der vier Salze, die die Nährlösung von Molisch zusammensetzen, ausgeschaltet ist. Wir kommen zu dem interessanten Ergebnis, daß durch das Fehlen

des Dikaliumphosphats, noch mehr aber durch das des Kalisalpeters das Schwinden des vorhandenen Hämatochroms verhindert wird.

Da nun auch, wie bekannt, bei Kulturen in Leitungswasser (Nr. 3, 4) der rote Farbstoff in den Zellen stark entwickelt bleibt, so müssen entweder die obengenannten Salze darin fehlen oder aber noch ein anderer Stoff darin auftreten, der durch sein Vorhandensein den Reichtum an Hämatochrom begünstigte. Daß ein etwaiger Eisengehalt, an den zunächst zu denken wäre, eine solche Rolle nicht spielen kann, lehren die Kulturen 10 und 11, die beweisen, daß der Zusatz von Eisenchlorid zur Nährlösung in dieser Beziehung ohne jede Wirkung ist Das Vorhandensein irgend eines anderen Stoffes mit derartiger Wirkung wird durch das Ergebnis der Kultur 9 sehr unwahrscheinlich gemacht, da hier durch das Vorhandensein der Molischs Lösung zusammensetzenden Stoffe im Leitungswasser ein allmähliches Ergrünen der Zellen — wie in der gewöhnlichen Nährlösung — herbeigeführt wird. Das Verhalten der Kulturen 7 und 8 gibt uns erst ein Mittel in die Hand, um diese Frage mit Sicherheit zu entscheiden, indem wir zu dem Leitungswasser die beiden die Färbung beeinflussenden Salze einzeln und gemeinsam hinzusetzen. Das Ergebnis dieses Versuchs zeigt Tabelle B.

Tabelle B.

Nr.	Datum	Zustand des Materials	Art des Versuchs	Einfluß auf das Hämatochrom
17	6. 11. 08	3 Monate trockene, ganz rote Palmellen	KNO_3 in Leitungswasser 0,4 : 1000	Nach 8 Tagen: Schwärmer mit großem roten Kern (vergl. etwa Taf. I, Fig. 3 u. 4)
18	6. 11. 08	„	K_2HPO_4 in Leitungswasser 0,4 : 1000	Nach 8 Tagen: Die meisten Schwärmer mit schmalem, manche mit breitem Hof (wie Taf. I, Fig. 2 u. 3)
19	6. 11. 08	„	$KNO_3 + K_2HPO_4$ in Leitungswasser 0,2 + 0,2 : 1000	Nach 8 Tagen: Manche Schwärmer mit großem, die meisten mit kleinem roten Kern (Taf. I, Fig. 4 u. 5)

Die Kulturen 17—19 beweisen, daß tatsächlich das Fehlen oder Vorhandensein der beiden genannten Salze in jedem Falle das Auftreten des Hämatochroms beeinflußt und daß kein anderer Stoff hierbei im Spiele ist; sie beweisen ferner, daß die Wirkung des K_2HPO_4 geringer ist und daß die Hauptrolle dem KNO_3 zufällt.

Nach dieser Feststellung drängt sich uns die Frage auf, ist es das ganze Salz in seiner spezifischen Wirkung, ist es das Alkali oder das Nitrat, ist es der Stickstoff oder der Sauerstoff, die den oben geschilderten Einfluß auf das Hämatochrom ausüben? Zur Entscheidung dieser Frage ist es nötig, jeden der in Betracht kommenden Faktoren einzeln durch einen anderen zu ersetzen. Hieraus ergibt sich eine Versuchsreihe, die in Tabelle C (Seite 10) zusammengestellt ist.

Kultur 20 beweist, daß das Kalium ohne jeden Einfluß ist, Kultur 22 beweist dasselbe für den Säurerest, der in dieser Kultur durch NH_4 vollwertig ersetzt wird und Kultur 21 zeigt, daß sogar eine organische stickstoffhaltige Verbindung an Stelle des Nitrats die gleiche Wirkung hervorbringt. Es ergibt sich daraus, daß allein der

Tabelle C.

Nr.	Datum	Zustand des Materials	Art des Versuchs	Einfluß auf das Hämatochrom
20	29. 7. 08	Trockene ganz rote Palmellen	In Molischs Lösung das KNO_3 durch $NaNO_3$ ersetzt	Wie sonst in Molischs Lösung
21	29. 7. 08	„	In Molischs Lösung das KNO_3 durch Eiweiß (0,2 : 100 H_2O) ersetzt	„
22	31. 8. 08	„	Ersatz des Nitrats durch NH_4. Zusammensetzung der Lösung: K_2HPO_4 $(NH_4)_2CO$, $MgSO_4$ (je 0,24 %)	„

Stickstoff, gleichviel in welcher Form er geboten wird, die Ausbildung von Hämatochrom unterdrückt und daß daher in **stickstoffhaltigen** Lösungen Haematococcus stets **grün**, in **stickstoffreien** bezw. sehr stickstoffarmen **rot** auftreten muß. Machen wir die Probe auf diesen Befund, indem wir von stickstoffhaltigen Nährlösungen z. B. **Erbsenwasser** oder einer Nährlösung **Zumsteins** (in der der Stickstoff in Form von Pepton geboten wird) auswählen (Tabelle D), so sehen wir unsere Annahme bestätigt.

Tabelle D.

Nr.	Datum	Zustand des Materials	Art des Versuchs	Einfluß auf das Hämatochrom
23	12. 8. 08	14 Tage trockene, ganz rote Palmellen	In Erbsenwasser	Die Schwärmer ergrünen wie in Molischs Lösung
24	12. 8. 08	„	Desgl., Zusatz von ein paar Tropfen Zitronensäure	„
25	6. 10. 08	Trockene, ganz rote Palmellen	In Zumsteins Nährlösung. Zusammensetzung: 0,5 Pepton, 0,5 Traubenzucker, 0,2 Zitronensäure, 0,02 $MgSO_4 + 7H_2O$, 0,05 KH_2PO_4, 100 Wasser (auf $^1/_{10}$ verdünnt)	„

Eine gleiche Versuchsanordnung, wie für den Kalisalpeter auch für das K_2HPO_4 durchzuführen, erübrigt sich, da durch die Versuche die Unwirksamkeit aller in dem Salz enthaltenen Elemente mit Ausnahme des Phosphors bereits nachgewiesen ist. Es folgt aus den Versuchen also ohne weiteres als zweites Ergebnis, daß das Vorhandensein oder Fehlen des **Phosphors** einen gleichartigen, wenn auch weniger starken Einfluß auf die Entwicklung des Hämatochroms ausübt.

Bei allen bisher angestellten Kulturversuchen war das Ausgangsmaterial ein gleichartiges: es wurden trockene tief rote Palmellen verwendet. So bleibt noch die Frage offen, ob nicht der Zustand des Ausgangsmaterials einen Einfluß auf die Wirkung des Mediums ausübt. Wie in dem Abschnitt über die Palmellenbildung noch weiter auseinanderzusetzen sein wird, treten in den Nährlösungen auch Palmellen mit

schmalem oder breitem grünen Hofe, ja gelegentlich sogar völlig grüne auf, ferner solche, in denen das Hämatochrom zwar gleichmäßig verteilt, aber so schwach entwickelt ist, daß die Zellen eine orangefarbige bis goldgrüne Färbung besitzen. Bisher haben unsere Kulturen nur ergeben, daß in stickstofffreien Lösungen das vorhandene Hämatochrom erhalten bleibt, wird es nun in den hämatochromarmen Zellen unter den gleichen Bedingungen auch gebildet? Wie verhalten sich ferner nicht ausgetrocknete Palmellen und wie verhalten sich Schwärmer, rote und grüne gegenüber einer Veränderung der Nährlösung? Antwort auf alle diese Fragen gibt uns die folgende Tabelle.

Tabelle E.

Nr.	Datum	Zustand des Materials	Art des Versuchs	Einfluß auf das Hämatochrom
26	31. 8. 08	Palmellen aus einer fünf Wochen alten Kultur in Molischs Lösung. Vor dem Eintrocknen: Hämatochrom verteilt, Farbe goldgrün bis blaßorange. Zwei Wochen trocken	In Leitungswasser	Vom 1. 9. an vorhandene Palmellen und meiste Schwärmer lebhaft rot, vorübergehend ein Teil der Schwärmer mit schmalem grünen Hof (wohl infolge mit eingetrockneter Salze der Molischkultur)
27	26. 8. 08	Palmellen aus Kultur 9 nach einem Monat: tief rot	Zu der erschöpften Nährlösung (vergl. Kultur 9) die ursprünglich vorhandene Menge KNO_3 neu hinzugesetzt	Bildung eines schmalen grünen Saumes
28	31. 8. 08	Palmellen aus obiger Kultur nach 5 Tagen: mit schmalem grünem Saum	Zu obiger Lösung die ursprünglich vorhandene Menge K_2HPO_4 neu hinzugesetzt	Der schmale Saum wird zum kräftigen Hof. Auftretende Schwärmer gleichfalls mit grünem Saum
29	26. 8. 08	Palmellen aus Kultur 10 nach einem Monat: tief rot	Zu der erschöpften Nährlösung (vergl. Kultur 10) die ursprünglich vorhandene Menge KNO_3 neu hinzugesetzt	Kräftiger grüner Hof gebildet
30	26. 8. 08	Palmellen aus einer Leitungswasser-Kultur nach einem Monat: tief rot	Zu dem Leitungswasser KNO_3 (im Mengenverhältnis, wie in Molischs Lösung) hinzugesetzt	Bildung eines schmalen grünen Saumes
31	31. 8. 08	Obige Kultur nach 5 Tagen: Palmellen mit schmalem grünem Saum	Zu obigem K_2HPO_4 (in gleicher Menge) hinzugesetzt	Palmellen und auftretende Schwärmer mit breitem Hofe
32	31. 7. 08	Palmellen aus Kultur 8: tief rot	Aus Molischs Lösung ohne KNO_3 in die vollständige Lösung	Vom folgenden Tage an Palmellen und auftretende Schwärmer mit zunehmendem grünen Hof.
33	31. 7. 08	Rote Schwärmer aus Kultur 8	Zu der Lösung in Kultur 8 das fehlende KNO_3 hinzugesetzt	Vom folgenden Tage an wachsendes Ergrünen
34	18. 7. 08	Ganz rote Schwärmer	Aus Leitungswasser in Molischs Lösung übertragen	Nach 72 Stunden grüner Hof gebildet, nach neun Tagen z. T. ganz grün
35	18. 7. 08	Grüne Schwärmer mit kleinem roten Kern	Aus Molischs Lösung in Leitungswasser übertragen	Nach 7 Tagen nur noch schmaler grüner Hof vorhanden; nach 9 Tagen ganz rote Palmellen und Schwärmer

Zu den obigen Kulturergebnissen wären noch die Beobachtungen hinzuzufügen, die wir an normalen Molischkulturen machen können (vergl. Kultur 1 u. 2), wenn nach längerem Gedeihen der Schwärmer die Salze allmählich verbraucht werden. Nach Verlauf weniger Wochen — früher oder später je nach der Stärke der Kultur — beobachtet man schon makroskopisch, daß die saftgrüne Färbung der Kulturflüssigkeit — verursacht durch die rein grünen Schwärmer — einen mehr olivengrünen Ton annimmt. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß wieder Spuren von Hämatochrom in den Schwärmern aufgetreten sind. Die Kulturfarbe wandelt sich nun weiter, wird braun, ziegelrot bis lebhaft blutrot. Dabei beschränkt sich die Färbung immer mehr auf Boden, Oberfläche und Wand, da nach und nach sämtliche Schwärmer in Palmellen übergegangen sind. Im Mikroskop beobachtet man an den Palmellen Schritt für Schritt den Übergang von ganz ober fast ganz grünen Formen zu lebhaft blutrot gefärbten. — Bei zunehmender Erschöpfung der Kulturlösung wird so deren Wirkung Schritt für Schritt wieder rückgängig gemacht und wir erhalten zum Schlusse ein Material, das dem Ausgangsmateriale gleichartig ist.

Dieser Kulturverlauf sowie die Ergebnisse der oben angeführten Kulturen 26—35 beweisen, daß der Zustand des Ausgangsmaterials einflußlos ist und daß die Wirkung des Mediums, insbesondere des Stickstoffs, in jedem Falle die gleiche ist.

c) Einfluß von Temperatur und Licht auf das Hämatochrom.

Nachdem wir über den Einfluß des Mediums auf die Färbung der Haematococcuszelle Klarheit gewonnen haben, tritt uns die weitere Frage entgegen, ob auch andere das organische Leben beeinflussende Faktoren für das Auftreten des Hämatochroms von Bedeutung sind. Als solche kommen hauptsächlich in Betracht: Temperatur und Licht.

Bei der Temperatur brauchen wir nicht zu verweilen, eine ganze Reihe bei niedriger Temperatur (6—7 °) und in der Wärme (bis zu 30 °, höhere Temperaturen werden von Hämatococcus auf die Dauer nicht vertragen) gezüchtete Kulturen haben nie einen merklichen Unterschied in dieser Hinsicht erkennen lassen. Ich kann also die Annahme Willes (1903), daß Kälte das Auftreten des Hämatochroms begünstige, nicht bestätigen.

Anders steht es mit dem Einfluß des Lichtes. Ein eigentümliches Verhalten fiel mir zuerst an Palmellen auf, die, in Molischs Lösung befindlich, in kleinen Gefäßen (in Uhrschälchen oder im hängenden Tropfen) gehalten wurden. Standen solche kleinen Kulturen auf einer dunkelen Unterlage in der Nähe eines Fensters, so daß Lichtreflexe im wesentlichen vermieden waren und die einseitige Belichtung stets aus der gleichen Richtung fiel, so zeigte das Hämatochrom regelmäßig eine völlig exzentrische Lagerung. Der vorhandene grüne Hof war auf der Lichtseite sehr stark verbreitert, während er auf der entgegengesetzten Seite fast gänzlich verdrängt war (Fig. 13).

Diese Erscheinung legte den Gedanken nahe, daß in der Lichtwirkung überhaupt die ganze Erklärung des Auftretens von Hämatochrom zu suchen sei. Ähnlich wie nach Engelmann die in großen Meerestiefen lebenden Rhodophyceen wegen der ver-

änderten Lichtverhältnisse Strahlen anderer Wellenlänge bedürfen, so konnte diese vielleicht auch der Haematococcus benötigen, um den Mangel eines lebenswichtigen Elementes, des Stickstoffs, zu ertragen. Aufschluß darüber, ob eine solche Hypothese berechtigt ist, mußten Kulturen in farbigem Lichte geben; insbesondere mußte das Auftreten von Hämatochrom in rotem Lichte unterbleiben, da die rote Scheibe schon die Aufgabe, die dem Hämatochrom zufiele, erfüllen würde. Solche Versuche versprachen umsomehr Erfolg, als ja neuerdings von Engelmann (1902) und Gaidukow (1903, 1904) bei Oscillaria eine derartige Beeinflussung durch die Farbe des Lichtes festgestellt wurde. Die Fäden wurden in grünem Lichte rot, in rotem grün, in blauem braungelb.

Von diesen Gesichtspunkten ausgehend, legte ich die in Tabelle F zusammengestellten Kulturen an. Sie wurden in schwarz ausgekleideten, auf der Lichtseite mit einer farbigen Glasscheibe versehenen Kästen aufgestellt.

Ein Blick auf die Kulturergebnisse lehrt, daß die auf theoretischen Erwägungen beruhenden Voraussetzungen in dieser Weise nicht erfüllt wurden.

Tabelle F.

Nr.	Datum	Zustand des Materials	Art des Versuchs	Einfluß auf das Hämatochrom
36	29. 9. 08	Trockne rote Palmellen	In Molischs Nährlösung in rotem Licht gezüchtet	Wie in weißem Licht
37	29. 9. 08	„	In Molischs Nährlösung in blauem Licht gezüchtet	Hämatochrom anscheinend noch etwas mehr zusammengedrängt, als in Kultur 36
38	30. 9. 08	„	In Molischs Nährlösung in grünem Licht gezüchtet	Hämatochrom nicht stärker entwickelt als in 36 und 37, doch anscheinend mehr verteilt
39	10. 10. 08	„	In Molischs Nährlösung ohne KNO_3 in rotem Licht gezüchtet	Die meisten Schwärmer am 4. — 7. Tage mit schmalem, einzelne mit breitem grünen Hof
40	10. 10. 08	„	In Molischs Nährlösung ohne KNO_3 in blauem Licht gezüchtet	Fast alle Schwärmer mit grünem Hof, einige nur noch mit rotem Kern
41	10. 10. 08	„	In Molischs Nährlösung ohne KNO_3 in grünem Licht gezüchtet	Nur wenige Schwärmer mit deutlichem Hof
42	26. 10. 08	„	Wiederholung der Versuche 39—41: rotes Licht	Nach einer Woche: Farbe der Kultur ziegelrot. Schwärmer wie in Kultur 39
43	26. 10. 08	„	blaues Licht	Nach einer Woche: Farbe der Kultur braun. Alle Schwärmer mit kräftigem Hof
44	26. 10. 08	„	grünes Licht	Nach einer Woche: Farbe der Kultur ziegelrot. Schwärmer ganz rot oder mit schmalem Hof
45	26. 10. 08	„	weißes Licht	Nach einer Woche: Farbe der Kultur braun. Meiste Schwärmer mit breitem Hof.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Versuche sowohl in einer Nährlösung, in der von vornherein ein Ergrünen der Schwärmer zu erwarten war (Kultur 36—38) als in solcher, in der sie nach unseren Erfahrungen überwiegend rot bleiben (Kultur 39—45), angestellt wurden. In allen drei ausgeführten Versuchsreihen erhalten wir nun dasselbe Bild. Stets nimmt bei den im blauen Lichte gezüchteten Schwärmern das Hämatochrom den kleinsten Platz ein und das Verhalten entspricht etwa dem in weißem Licht. Ähnlich verhalten sich auch die Kulturen in rotem Lichte, doch beansprucht hier das Hämotochrom durchschnittlich einen größeren Raum in der Zelle. Am stärksten erscheint es jedoch bei den in grünem Lichte lebenden Schwärmern entwickelt. Die Unterschiede sind verhältnismäßig gering und deshalb schwer zu erkennen, weil ja die Hämatochrommenge der Schwärmer gleicher Kultur erheblich schwankt. Es kommt daher bei der Beurteilung auf den Gesamteindruck der Kultur an und es bedurfte der übereinstimmenden Ergebnisse dreier Versuchsreihen, um mir die Gewißheit zu geben, daß tatsächlich durch die Lichtwirkung bestimmte Unterschiede vorhanden sind. Am deutlichsten werden diese Unterschiede noch bemerkbar, wenn man mit freiem Auge die Farbe der Kulturflüssigkeiten vergleicht (Kultur 42—45). Den Kulturen im blauen wie im weißen Licht verleiht das mehr zur Geltung gelangende Chlorophyll einen bräunlichen Farbenton. Allerdings bleiben hierbei wieder die Unterschiede, die in rotem und grünem Lichte vorhanden sind, verborgen, da auch bei den Rotkulturen das sichtbar werdende Chlorophyll noch nicht ausreicht, um die Kulturfarbe merklich zu beeinflussen.

Vergleicht man nun die Schwärmer der verschiedenen Kulturen miteinander, so gewinnt man den Eindruck, daß nicht die Menge des vorhandenen Hämatochroms eine verschieden große ist, sondern daß die Unterschiede nur durch eine verschiedene Verteilung etwa gleicher Mengen hervorgerufen werden. Denn dort, wo das Hämatochrom einen größeren Raum in der Zelle beansprucht, erscheint es viel stärker aufgelockert, man kann deutlich einzelne Brocken und kleinere Körnchen unterscheiden, während es in den Zellen, in denen es auf einen kleinen Fleck in der Mitte beschränkt ist, einen festen, scharf umschriebenen Klumpen bildet.

Auf Erklärungsversuche für das Verhalten des Hämatochroms dem verschiedenfarbigen Lichte gegenüber mich einzulassen, erscheint mir zwecklos. Hinweisen möchte ich nur noch auf die heliotaktischen Versuche Franks (1904) an Chlamydomonas tingens. Auch hierbei zeigte sich das blaue Licht am wirksamsten. „Blaues Licht wirkte gleich dem Tageslicht, während hingegen rotes Licht wie Dunkelheit wirkte.“ Untersuchungen in grünem Licht wurden von Frank nicht angestellt.

Auf jeden Fall zeigt die Beobachtung, daß die Farbe des Lichtes nur auf die Verteilung nicht aber auf die Menge des Hämatochroms einen Einfluß ausübt, daß das Vorhandensein des Farbstoffes in keiner Beziehung zur Wirkung des Lichtes steht. Seine Rolle dem Lichte gegenüber ist eine rein passive, wo er durch seine Anwesenheit stört — vielleicht bei der Assimilation — wird er von der Zelle nach innen abgeschoben.

d) Hämatochrom bei Euglena sanguinea.

Zur Untersuchung, ob die bei Haematococcus gewonnenen Ergebnisse über das Verhalten des Hämatochroms eine allgemeine Gültigkeit bezüglich der rotgefärbten Süßwasserbewohner besitzen, war es geboten, noch an einem andern Organismus diese Frage zu prüfen. Eine günstige Gelegenheit hierzu bot sich mir, als ich durch die Freundlichkeit des Herrn F. Fieberg auf einen Teich in der Nähe von Zehlendorf aufmerksam gemacht wurde, dessen Wasser, wo es zwischen den großen Wasserrosenblättern zutage trat, durch große Mengen roter Euglenen blutrot gefärbt war. Das Aussehen dieser Flagellaten weicht erheblich von den für E. sanguinea von neueren Forschern [vergl. Klebs (1883), Blochmann (1895)] gegebenen Beschreibungen ab, so daß ich zunächst glaubte, eine neue Art vor mir zu haben. Erst eine Vergleichung mit der Beschreibung und den Abbildungen Ehrenbergs (1838) überzeugte mich, daß es sich um die von ihm als E. sanguinea beschriebene Art handelt. Ich füge daher eine Beschreibung der Art an und glaube, es wird sich herausstellen, daß wenigstens eine andere Art wegen ihres Hämatochromgehaltes für E. sanguinea gehalten worden ist:

E. sanguinea Ehr. (Fig. 7—9).

Langgestreckt, vorn breit abgestutzt, hinten zugespitzt, Geißel von Körperlänge. Cuticula mit kräftiger Spiralstreifung. Chlorophyll in Form zahlreicher schmaler, gewöhnlich durch Querbrüche verbundener Bänder, die in der Richtung der Spiralstreifen verlaufen. Den Bändern liegen innen zahlreiche beschalte Pyrenoide an. In stickstoff- (und phosphor-?) armen Teichen durch Hämatochrom rotgefärbt (Fig. 7), in Erbsenwasser ergrünend (Fig. 9). Metabolisch. Lg. 80—120 μ.

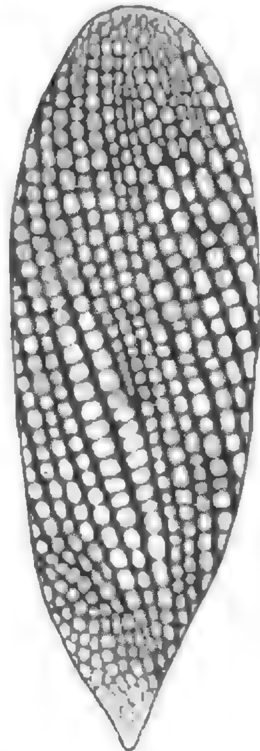


Fig. 2.

Obiger Kennzeichnung möchte ich noch einige Bemerkungen über die Verteilung des Chlorophylls hinzufügen. Zu deren Untersuchung eignen sich gut die in Erbsenwasser ergrünten Formen. Bei ihnen erkennt man schon undeutlich im Leben, sehr gut aber an Tieren, die mit Osmiumdämpfen abgetötet sind, den grünen Farbstoff in einer netzartigen Anordnung. Die Textfig. 2 gibt das Bild wieder, wie es eine mit Osmiumdämpfen behandelte nur wenig zusammengezogene Euglene bietet. Wir gewinnen den Eindruck, als wenn wir hier nichts anderes als die Protoplasmastruktur der Zelle vor uns haben, und es scheint, als ob das Chlorophyll den oberflächlichsten Wabenwänden ein- oder aufgelagert ist, und zwar in der Längsrichtung in weit stärkerem Maße als in der Querrichtung.

Eine merkwürdige Veränderung in der Verteilung des Chlorophylls zeigten Euglenen, die längere Zeit in Erbsenwasser kultiviert waren, die letzten Vertreter der kurz darauf aussterbenden Kultur. Das Chlorophyll war zu kürzeren oder längeren breiten Bändern zusammengeflossen, zwischen denen die Wabenstruktur des Protoplasmas

erkennbar wurde, ein Bild, das ein sich unter dem Deckglas abkugelnder Flagellat besonders deutlich zeigte (Fig. 16).

Die beschriebene Euglene wurde, um eine geeignete Kulturlösung ausfindig zu machen, einer großen Zahl verschiedener Kulturbedingungen unterworfen, und zwar:

Erbsenwasser in verschiedenen Verdünnungen,

Nährlösung von Zumstein (Zusammensetzung siehe Tab. D, Kultur 25) in verschiedenen Verdünnungen,

Molischs Nährlösung,

Molischs Nährlösung $^3/_4$ + Traubenzucker (0,5 : 100) $^1/_4$,

Molischs Nährlösung ohne KNO_3 $^1/_2$ + Traubenzucker (0,5 : 100) $^1/_2$.

Molischs Nährlösung ohne K_2HPO_4 $^1/_2$ + Traubenzucker $^1/_2$,

Erbsenwasser + Zitronensäure,

Zumsteins Nährlösung ohne Pepton.

In allen genannten Lösungen ging die Euglene in kurzer Zeit zugrunde, mit Ausnahme des Erbsenwassers und der Vereinigung von Molischs Lösung und Traubenzucker. Bei der Kultur in Erbsenwasser konnte ich eine stetige Abnahme des Hämatochroms bemerken und erhielt schließlich Formen wie die in Fig. 9 abgebildete. Daß nicht auch die letzten Spuren roten Farbstoffes verschwanden, lag wohl nur daran, daß es mir nicht gelang, Euglena sanguinea länger als vier Wochen in dem Erbsenwasser zu halten. Sie vermehrte sich nur schwach und wurde trotz mehrfacher Übertragung in frische Flüssigkeit schließlich wohl durch die überhandnehmenden Bakterien zum Aussterben gebracht.

Ist nun auch das Erbsenwasser als eine Lösung von unbekannter Zusammensetzung ungeeignet, um aus seiner Wirkung auf die Zelle sichere Schlüsse zu ziehen, so legt doch die Übereinstimmung des Verhaltens von Euglena sanguinea und Haematococcus den Schluß nahe, daß bei beiden Arten die gleichen Ursachen wirksam gewesen sind. Sicherheit über diesen Punkt gewinnen wir erst, wenn wir nachweisen, daß Stickstoff und Phosphor, die im Erbsenwasser in reichlichen Mengen vorhanden sind, oder wenigstens eines dieser Elemente, in dem natürlichen Medium der Euglena sanguinea fehlen.

Um diesen Nachweis zu führen, haben wir in Haematococcus nunmehr eine Handhabe. Das Wasser, in dem die Euglenen gediehen, wurde durch Fließpapier filtriert und Haemotococcus wurde darin gezüchtet. Die Schwärmer blieben teils ganz rot, teils zeigten sie einen sehr schmalen Hof, der kaum bei einzelnen die Breite wie bei Fig. 2 erreichte. Dieses Verhalten ist ein sicherer Beweis des Stickstoffmangels in dem Wasser, da bei dem Fehlen von Phosphor allein nach unseren früheren Erfahrungen die Abnahme des Hämatochroms eine erheblichere ist. Ob neben dem Stickstoffmangel auch ein Phosphormangel besteht, läßt sich natürlich nicht entscheiden.

Nachdem wir so die Übereinstimmung der Euglena sanguinea mit Haematococcus bezüglich des Hämatochroms nachgewiesen haben, ist es noch notwendig, auf das Verhalten der Euglene in der zweiten oben erwähnten Nährlösung, der Zusammensetzung aus Molischs Gemisch und Traubenzucker, einzugehen. In dieser Kultur schienen mir anfangs die Euglenen gleichfalls abgestorben zu sein; es entwickelte

sich darin eine üppige Algenflora. Nach drei Wochen, als die Entwicklung der Algen zum Stillstand gekommen war, bemerkte ich im Kulturglase plötzlich einzelne Euglenen, die schon bei Lupenbetrachtung auffallend rot erschienen. Unter dem Mikroskop stellte es sich heraus, daß die Zellen in ihrem Hämatochromgehalt vollständig mit den Ausgangsformen übereinstimmten, daß sie jedoch jede Spur von Chlorophyll verloren hatten (Fig. 8). Leider war nach der dreiwöchigen Algenvegetation die gegenwärtige Zusammensetzung der Löeung ganz unbekannt. Zu vermuten war, daß die Algen in der Hauptsache die anorganischen Salze verbraucht hatten, für das Fehlen des Nitrats und Phosphats sprach wenigstens der Hämatochromgehalt der Euglenen; doch gelang es weder in einer Zusammensetzung von nitratfreier Molischlösung mit Traubenzucker, noch in reinem Traubenzucker die Form fortzuzüchten. Die Euglenen blieben auch im ersten Kulturglase vereinzelt und verschwanden nach einigen Wochen. Für die Ursachen des Chlorophyllschwundes kann ich keine Erklärung geben. Mit den Ergebnissen Zumsteins (1900) bei Euglena gracilis ist dieser Fall nicht recht in Übereinstimmung zu bringen, denn weder befand sich das Kulturglas in der Dunkelheit, noch kann von besonders hoher Konzentration der Nährlösung hier die Rede sein.

e) Pigmentbildung bei Euglena gracilis.

Da es nunmehr gelungen war, die Bedingungen festzustellen, unter denen die bekannten Hämatochrombildner ihren Farbstoff in Menge hervorbringen, wandte ich mich der Frage zu, ob es möglich sei, Flagellaten, die uns allgemein nur als grüne Formen bekannt sind, durch geeignete Kulturbedingungen zur Erzeugung von Hämatochrom zu veranlassen.

Da von zahlreichen Vertretern der Gattung Chlamydomonas bekannt ist, daß die aus der Kopulation der Gameten entstehenden Zygoten einen roten Farbstoff aufspeichern und da auf Schneefeldern der Alpen sogar eine dauernd rote Form, Chlamydomonas nivalis, gefunden wird, so versuchte ich eine von mir nicht näher bestimmte Chlamydomonasart zur Bildung von Hämatochrom zu veranlassen. Diese Art, die sich in Erbsenwasser vorzüglich vermehrte, gedieh auch leidlich in Molischs Nährlösung, der einige Tropfen Eisenchlorid zugefügt wurden. Von hier wurden die Flagellaten in eine Lösung gleicher Zusammensetzung, der jedoch der Kalisalpeter fehlte, übertragen. Sie gingen sehr bald in den geißellosen Zustand über, lagen auf dem Boden des Gefäßes, vermehrten sich fast gar nicht und füllten sich im Laufe der Zeit dicht mit runden Körnern an, die sich durch die Jodreaktion als Stärke erwiesen. Der Chlorophyllgehalt nahm stark ab und das Chlorophyll zeigte eine gelbliche Farbe. Das Auftreten eines unterscheidbaren roten oder gelben Farbstoffs war jedoch trotz monatelanger Kultur nicht nachzuweisen.

Bessere Ergebnisse erzielte ich bei Versuchen, die ich mit Euglena gracilis anstellte. Diese Form trat in einer der oben erwähnten, zur Züchtung der Euglena sanguinea mit Zumsteins Nährlösung, und zwar in zehnfacher Verdünnung, angesetzten Kulturen unvermutet in großen Massen auf (Fig. 10). Die Nährlösung, die also folgendermaßen zusammengesetzt war:

0,5	Pepton,
0,5	Traubenzucker,
0,2	Zitronensäure,
0,02	$MgSO_4 + 7\ H_2O$,
0,05	KH_2PO_4,
1000	H_2O.

stellte ich durch Ausschaltung des Peptons stickstoffrei dar und übertrug in die so veränderte Lösung die Euglenen. Ihr Allgemeinverhalten zeigte große Übereinstimmung mit dem oben geschilderten der Chlamydomonaden. Sie verloren bald ihre Geißel und lagen fast ganz still auf dem Boden, nur gelegentlich metabolische Bewegungen ausführend. Die Zahl der Chromatophoren nahm stark ab und entsprechend den Stärkekörnern bei Chlamydomonas war der Körper mit großen Paramylumkörnern vollgepfropft.

Nach neuntägiger Kultur waren im Innern der Zellen deutliche Spuren eines rotgelben Pigmentes nachweisbar. Die Menge des Farbstoffes nahm bei der Dauer der Kultur zu und wurde nach Verlauf mehrerer Wochen, wie Fig. 11 zeigt, recht beträchtlich. Die Stellen am Boden des Gefäßes, an denen eine größere Anzahl von Euglenen vereinigt war, machten sich schon dem freien Auge durch eine gelblichbraune Färbung bemerkbar. Die einzelnen Pigmentkörnchen blieben sehr klein, nur nahe der Oberfläche lagen zwischen den großen Paramylumschollen vereinzelt größere Tropfen.

Entsprechende Formen, wie die ebengeschilderten, beschreibt bereits Klebs (1883) von Euglena velata: „Wenn die Assimilation sehr beeinträchtigt ist, treten mit der Degeneration der Chlorophyllträger rote, ölartige Massen in dem Cytoplasma auf; es sieht so aus, als ob mehrere Augenflecke entstanden wären." „Sie scheinen keine Beziehung zu dem Hämatochrom zu haben," denn bei Einwirkung von Jod färbten sie sich dunkelbraun. Mit dem gleichen Versuch erhielt ich bei meiner Form eine deutliche Schwärzung. Diese Reaktion beweist natürlich gar nichts, und ich glaube auch nicht, daß dieses Pigment mit dem Hämatochrom chemisch völlig übereinstimmt; dagegen spricht schon die abweichende Farbe. Diese Frage ist hier jedoch von nebensächlicher Bedeutung gegenüber der Tatsache, daß eine für gewöhnlich grüne Euglene in einem stickstoffreien Medium gleichfalls ein Pigment — wie wir wohl annehmen können, ein Karotin — erzeugt.

Erwähnenswert ist noch, daß es leicht gelang, die beschriebene Form wieder in die normale Euglena gracilis zurückzuzüchten. Bei Überführung in die peptonhaltige Nährlösung beobachtet man bereits nach ein bis zwei Tagen das Wiederauftreten der Geißel und die Abnahme des Paramylums, am vierten Tage ist meist die normale Körperform wieder annähernd hergestellt und die Chromatophoren haben sich vermehrt. Das Karotin ist noch in erheblichen Mengen vorhanden. Eine derartige Zwischenform stellt Fig. 12 dar. Der Schwund des Pigmentes schreitet ziemlich langsam vorwärts, erst nach etwa 14 Tagen ist nichts mehr davon zu entdecken.

f) Allgemeine Gesichtspunkte.

Die Erkenntnis, die wir von den Bedingungen der Hämatochrombildung gewonnen haben, macht uns die Verhältnisse, die wir in der Natur antreffen, verständlich.

Beginnen wir mit dem biologischen Verhalten des Haematococcus. Für gewöhnlich tritt er in Pfützen frisch gefallenen Regenwassers auf, durch deren Rotfärbung er ja die Veranlassung zu der Sage vom „Blutregen“ gegeben hat. In diesem an Salzen sehr armen Wasser tritt der Flagellat natürlich als rote Form in die Erscheinung. Sehr bald reichert nun aber die Pfütze ihren Stickstoff- und Phosphorgehalt an, indem sie Ammoniakverbindungen und Phosphate dem Boden entzieht und indem eine mehr oder weniger große Fäulnis, verursacht durch überschwemmte Pflanzen, ertrunkene Insekten usw., einsetzt, und dementsprechend beobachten wir, daß Haematococcus allmählich ergrünt. Diese Erscheinung hält so lange an, bis die gelösten Salze erschöpft sind und das Wasser ausgefault ist. Zu dieser Zeit finden wir, daß die Haematococcen, die jetzt in der Regel in die Palmellenform übergegangen sind, sich wieder vollständig mit Hämatochrom anfüllen. Auf die Ursachen der Palmellenbildung, die durchaus nicht mit der Anreicherung des Hämatochroms Hand in Hand gehen muß, werde ich an anderer Stelle zu sprechen kommen.

Ein wesentlich anderes Bild erhalten wir, wenn wir uns der Beobachtung der Chlamydomonasarten zuwenden. Diese Arten bevorzugen stark faulige Flüssigkeiten. In Pfützen, in denen durch tierische Exkremente oder anderes eine hochgradige Fäulnis hervorgerufen wird, treten sie in solchen Massen auf, daß sie das Wasser tiefgrün färben. Ist das Wasser ausgefault, so finden wir nur noch die mit rotem Farbstoff angefüllten Zygoten vor. Daß wir das Pigment niemals in den Schwärmern beobachten, ist wohl durch die außerordentliche Empfindlichkeit der Schwärmer gegen jede Verschlechterung der Lebensbedingungen zu erklären. Es ist eine bekannte Tatsache, daß man bei Chlamydomonas sehr leicht Gametenbildung hervorrufen kann, wenn man sie aus einer Nährlösung in reines Wasser überträgt. So werden die Flagellaten auch in der Natur bei Eintritt von Nahrungsmangel zu geschlechtlichen Vorgängen schreiten, so daß, wenn der Stickstoff im Wasser verbraucht ist, nur noch Zygoten vorhanden sind.

Eine Chlamydomonasart, die dauerndem Stickstoffmangel angepaßt ist, ist Chlamydomonas nivalis. Auf den Schneefeldern der Alpen, wo schon durch die niedere Temperatur jede Verwesung organischer Stoffe gehemmt wird, wo eine Anreicherung des Salzgehaltes der atmosphärischen Niederschläge durch Bodensalze ausgeschlossen ist, bleibt diese Form dauernd rot. Dieser Umstand veranlaßte frühere Forscher, sie in die Gattung Haematococcus zu stellen, bis ihre Zugehörigkeit zu der Gattung Chlamydomonas durch Wille (1903) sichergestellt wurde.

Die letzterwähnte Art leitet zur Betrachtung der Verhältnisse über, wie wir sie allgemein in hochalpinen Gewässern vorfinden. Kürzlich erschien eine Arbeit von C. Klausener (1908) über die Blutseen der Hochalpen. Solche Seen, die ihr rotes Aussehen dem massenhaften Auftreten der Euglena sanguinea verdanken, liegen in der Regel in der baumlosen Region auf Alpenweiden. Der Untergrund besteht aus einem Schlamm feinster Gesteinstrümmer. Höhere Wasserpflanzen finden sich selten. Die Wasserzufuhr geschieht nur durch Niederschläge und kleine Sickerquellen. Weiterhin sind für uns noch die Temperaturverhältnisse wichtig. Ich gebe einige Angaben

Klauseners an dem besonders charakteristischen Beispiel des Blutsees am Stätzerhorn (2200 m) wieder:

4.	Juni	1907	gänzlich unter Schnee,
21.	„	1907	5° C.,
12.	Juli	1907	13° „
17.	„	1907	22° „
8.	Aug.	1907	27° „
15.	„	1907	20° „
13.	Sept.	1907	15° „
19.	„	1907	5° „
3.	Okt.	1907	3° „

Anfang November dauernde Vereisung.

In einem See mit den hier kurz geschilderten Lebensbedingungen findet man im Hochsommer Euglena sanguinea in tiefroter Form in großen Mengen. Gegen den Herbst werden die Euglenen allmählich grün. Auch im Frühjahr ist, wenn auch weniger deutlich, ein Vorherrschen der grünen Formen zu bemerken.

Wie können wir nun auf Grund unserer Ergebnisse das Verhalten der Euglenen aus den Bedingungen des Sees erklären? — Im Frühjahr, wenn der See infolge der Schneeschmelze über seine Ufer tritt und das seine Ufer umsäumende Weidegras überschwemmt, hat er Gelegenheit, organische Substanzen in seinem Wasser aufzunehmen; die fäulnishemmende niedrige Temperatur wirkt jedoch einer allzustarken Anreicherung von Stickstoff- und Phosphorverbindungen entgegen. Infolgedessen sind die ganz grünen Formen der Euglena sanguinea weniger häufig. Mitte Juli steigt nun die Temperatur des Teiches plötzlich stark in die Höhe. Die Folge ist eine lebhafte Vermehrung der Euglenen, die schnell einen steigenden Mangel der organischen Stoffe hervorruft, während bestimmte anorganische Salze wohl in unerschöpflicher Menge aus dem Gesteinsschlamm des Sees in Lösung gehen. So sind die Bedingungen gegeben, die zur massenhaften Anhäufung von Hämatochrom in der Euglene führen. Die steigende Temperatur erweckt aber auf der Alm auch das Leben der Insekten, deren Leichen zahlreich in den Tümpel geraten, das weidende Vieh verunreinigt durch seinen Kot das Wasser und der Tätigkeit von Fäulnisbakterien sind durch die hohe Wassertemperatur günstige Bedingungen geboten. Es ist klar, daß der so entstehende Reichtum an organischen Stoffen ein vollständiges Ergrünen der Euglenen bewirken muß. Charakteristisch ist auch, daß gegen den Herbst im Wasser des Teiches auch die Freunde der Fäulnis, Formen wie Euglena viridis und deses auftreten.

Klausener bringt das Vorhandensein des Hämatochroms in Beziehung zur Wirkung des Lichtes; es soll dazu dienen, die ultravioletten, wie überhaupt die stärker brechbaren Strahlen, an denen das Alpenlicht reich ist, und die eine zerstörende Wirkung auf das Chlorophyll ausüben, unwirksam zu machen. Wenn er als Beweis dafür anführt, daß mitgenommenes und im Laboratorium aufgehobenes Material in kurzer Zeit ergrünte und zwar das dem Fenster entfernter stehende schneller als das dicht am Fenster befindliche, so zieht er nicht in Betracht, daß in kleinen Gefäßen viel leichter Fäulnis eintritt, besonders dann, wenn das Material etwa noch durch Fang

mit dem Planktonnetze konzentriert worden ist. Zudem wird die Entwicklung der lichtbedürftigen Euglenen im Dunkeln natürlich gehemmt, auf den Fäulnisprozeß hat die Dunkelheit jedoch keinen Einfluß. Die viel geringere Zahl der Euglenen im Dunkeln wird sich daher viel schneller eines Überflusses an Stickstoff erfreuen und daher schneller ergrünen, als die Artgenossen am Fenster.

Einleuchtender sind die Schlüsse, die Klausener aus dem mikrospektrischen Verhalten des Hämatochroms für seine Bedeutung in der Natur zieht. Kutscher (1898), der den Farbstoff in dieser Richtung untersucht hat, gibt nämlich von einer gesättigten ätherischen Lösung an: „Dieselbe löschte vollkommen das Ende des Spektrums aus." Ich möchte daher eine Schutzmöglichkeit durch das Hämatochrom in der oben bezeichneten Weise nicht bestreiten. Es ist das ein rein zufälliger Vorteil, den ein aus ganz anderen Gründen entstehender Stoff seinem Träger bietet. Unsere oben geschilderten Kulturversuche des Haematococcus in farbigem Licht haben ja gleichfalls gewisse Beziehungen des Farbstoffes zum Lichte erkennen lassen, Beziehungen, die aber mit seinem Auftreten selbst nichts zu tun haben.

Es bleibt also immer noch die Frage offen, welche tatsächliche Bedeutung dem Hämatochrom nun eigentlich zukommt. Auf diese Frage läßt sich eine klare Antwort noch nicht geben. Sicher ist nur, daß alle bisherigen Erklärungsversuche, die, verführt durch die Farbe, Beziehungen zum Lichte annahmen, das Richtige nicht getroffen haben. Hazen (1899) glaubt, daß das Hämatochrom das Chlorophyll bei der Austrocknung der Zelle ersetze, da es widerstandsfähiger sei, und daß es vielleicht auch als Nährstoff Bedeutung habe. Die erstere Annahme ist als irrtümlich gekennzeichnet durch unsere Erkenntnis, daß die Hämatochrombildung nichts mit der Austrocknung zu tun hat, für die zweite fehlt vorläufig eine Grundlage.

Die Annahme irgendwelcher Beziehungen zum Chlorophyll liegt um so näher, als ja Spuren eines Karotins allgemein in chlorophyllhaltigen Zellen nachgewiesen sind. Es wäre möglich, daß in dem stickstoffreien Medium die Ausbildung von Chlorophyll beeinträchtigt wird und an seiner Stelle das Karotin entsteht.

III. Natur und Bedeutung des Volutins.

In der fixierten und gefärbten Haematococcuszelle ziehen regelmäßig eigenartige, im Protoplasma liegende Körner die Aufmerksamkeit auf sich (vergl. die Figuren auf Tafel II). Mit Delafields Hämatoxylin werden sie lebhafter gefärbt als der Kern, und zwar gewöhnlich mit einem mehr rötlichen Farbenton; bei nachfolgender Differenzierung mit salzsaurem Alkohol hielten sie den Farbstoff mit großer Zähigkeit fest, selbst noch, wenn der Kern schon stark zu verblassen begann. Durch dieses Verhalten erinnerten sie an die Volutinkörner Arthur Meyers (1904).

Unter Volutin versteht A. Meyer einen Stoff, den er für eine Nukleinsäureverbindung hält und den er als einen Reservestoff betrachtet, der in eine physiologische Kategorie mit Fetten und Kohlehydraten gehöre. Z. T. handelt es sich hierbei um Zelleinschlüsse, die bereits von früheren Forschern [Bütschli (1890), Lauterborn (1896) u. a.] beobachtet wurden. Auf Grund des mikrochemischen Verhaltens hat A. Meyer diesen Stoff bei zahlreichen Bakterien, Pilzen und Algen (fast aller Gruppen) nach-

gewiesen, dagegen konnte er nichts davon bei Archegoniaten und Phanerogamen beobachten. Doch nicht nur bei echten Pflanzen und mit den Algen verwandten Flagellaten sind die Volutinkörner zu finden, sondern auch bei echten Protozoen. Sassi (1907) beobachtete sie außer in Polytoma uvella in mehreren Euglenaarten. Von Schubotz (1905) wurden sie bei Amoeba proteus und Amoeba villosa genauer beschrieben. Auch bei Sporozoen wurden sie vielfach beobachtet. Schaudinn (1900) bezeichnet sie als „hämatoxylinophile Granula" und Kunze (1907) weist auf ihre Übereinstimmung mit Meyers „Volutinkugeln" hin. Auf ihr Vorkommen bei Haemogregarinen werde ich in einer demnächst in dieser Zeitschrift zu veröffentlichenden Arbeit ausführlich zu sprechen kommen.

Aus der Gruppe der Volvoccaceen hat Meyer nur rote Dauerzellen unseres Haematococcus nach seiner Reaktion I[1]) untersucht. Da die von ihm gefundenen Körner sich in 1 % Schwefelsäure lösten, so glaubte Meyer, daß sie mit den bei Zygnemataceen gefundenen identisch seien, die er ihres etwas abweichenden chemischen Verhaltens wegen als l-Volutin bezeichnet. Inzwischen sind die Volutinkörner auch noch bei anderen Volvoccaceen gefunden worden, so von Sassi (1907) und Merton (1908) bei Pleodorina, von Hamburger (1905) bei Dunaliella salina, und ich kann hinzufügen, daß sie außer bei Haematococcus auch bei Chlamydomonas eine regelmäßige Erscheinung bilden, so daß wir wohl auf ein allgemeines Vorkommen bei den Volvoccaceen schließen können.

Ich habe sowohl an den Schwärmern als an den Palmellen des Haematococcus die Reaktion I Arthur Meyers ausgeführt. Da es außerordentlich schwierig ist, das Hämatochrom aus der Zelle zu entfernen, so gewann ich durch Züchtung grüne Palmellen, indem ich grüne Schwärmer in einen hängenden Tropfen brachte, in dem sie sich, wohl infolge des mangelhaften Gasaustausches in wenigen Tagen in Ruhezellen verwandelten. Die oben erwähnten Angaben Meyers kann ich nicht bestätigen, denn weder in den Schwärmern, noch in den Palmellen wurden die mit Methylenblau gefärbten Körper durch 1 %ige Schwefelsäure entfärbt; erst nach stundenlanger Einwirkung begannen sie, wohl infolge der durch Verdunstung wachsenden Konzentration der Säure, etwas zu verblassen. Ein Zusatz von 5 %iger Schwefelsäure entfärbte die Körner in wenigen Minuten. Eine gute Kontrolle der Versuche boten im Präparate vorhandene Bakterien, mit deren Volutinkörnern die Körner des Haematococcus im Verhalten völlig übereinstimmten. Es handelt sich also bei Haematococcus um echtes Volutin im Sinne Arthur Meyers.

Der abweichende Befund Meyers erklärt sich jedenfalls dadurch, daß er die verwendeten Haematococcuspalmellen vor der Färbung zwecks Entfernung des Hämatochroms abwechselnd in absolutem Alkohol und in Chloroform kochte. Da schon siedendes Wasser nach seinen Angaben das Volutin auflöst, so ist anzunehmen, daß die Körner durch die Hitze Veränderungen erlitten hatten.

---

[1]) Färbung mit Methylenblau (1 Teil einer konzentrierten Lösung auf 9 Teile Wasser), darauf Zusatz von 1 %iger Schwefelsäure zum Präparat. Die Volutinkörner lösen sich nicht und nehmen eine dunkelblaue Färbung an, während alles andere, auch der Kern, entfärbt wird. Bei Zusatz von 5 %iger Schwefelsäure werden sie aufgelöst.

Die gleiche Reaktion habe ich mit positivem Erfolge an einer nicht näher bestimmten Chlamydomonasart, an Schwärmern sowohl als an Palmellen ausgeführt. Der Flagellat wurde in Erbsenwasser kultiviert. Auch bei Euglena gracilis, die in einer von Zumstein angegebenen, peptonhaltigen Lösung (vergl. S. 18) gezüchtet wurde, erwiesen sich mit Kernfarbstoffen stark färbbare Körnchen, die, wie die Textfigur 3 zeigt, in frischen Kulturen in recht erheblicher Anzahl und Größe auftreten können, als Volutin.

Die große Neigung zu den Kernfarbstoffen ist eine wichtige Eigentümlichkeit der Volutinkörner; mit allen von mir angewandten Kernfarbstoffen, auch mit dem gewöhnlich als typischer Chromatinfarbstoff betrachteten Boraxkarmin färbten sie sich und zwar in jedem Falle bedeutend kräftiger als der Kern. Diese Färbbarkeit könnte den Gedanken nahe legen, daß wir es hier mit den von Richard Hertwig (1902) entdeckten und später von anderen Forschern in den verschiedenartigsten Zellen gefundenen Chromidien zu tun hätten. Hierzu ist zu bemerken, daß ein Entstehen aus dem Kerne, das beispielsweise Guilliermond (1903, 1906) annimmt, nicht nachzuweisen ist. Es ist sogar, wie sich aus dem weiteren ergeben wird, ziemlich sicher, daß die Körner sich im Protoplasma bilden.

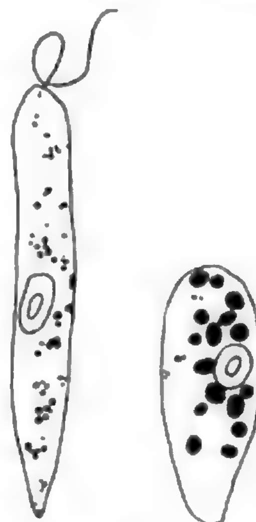
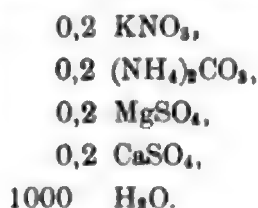


Fig. 3.

Versuchen wir auf der Grundlage dessen, was über das Volutin bereits bekannt ist, und mit Hilfe einiger anzustellender Experimente über Wesen und Bedeutung der Gebilde Klarheit zu erlangen. Was läßt sich da zunächst aus dem färberischen Verhalten schließen?

Nach Angaben Prowazeks (1908) und Schaumanns (1908) hat Giemsa experimentell den Nachweis erbracht, daß die Färbbarkeit des Zellkerns durch den Gehalt an Metaphosphorsäure bedingt ist[1]). Wir sind auf Grund dieser Ergebnisse zu der Vermutung berechtigt, daß auch die Volutinkörner aus einem phosphorhaltigen Stoffe bestehen. Die Richtigkeit der Annahme läßt sich leicht prüfen, wenn wir Haematococcus in einer phosphorfreien Nährlösung züchten. Ich habe diese Lösung absichtlich möglichst stickstoffreich gewählt, um in dieser Beziehung einwandfrei günstige Kulturbedingungen zu schaffen. Die Nährlösung setzte sich zusammen aus:


0,2 KNO_3,
0,2 $(NH_4)_2CO_3$,
0,2 $MgSO_4$,
0,2 $CaSO_4$,
1000 H_2O.

Um möglichst die Wirkung von Phosphorspuren auszuschalten, die vielleicht in dem eingetrockneten Schlamm, der zur Beschickung der Kultur verwandt wurde,

[1]) Wie mir Herr Dr. Giemsa mitteilt, hat er selbst seine diesbezüglichen Beobachtungen noch nicht veröffentlicht.

enthalten waren, übertrug ich nach 48 Stunden einen Teil der Schwärmer in frische Lösung (Gefäß 2) gleicher Zusammensetzung. Das Ergebnis des Versuches war das folgende:

Gefäß 1 nach 2 Tagen: Fast alle Schwärmer bei Meyers Reaktion I (Methylenblau, 1%ige Schwefelsäure), völlig volutinfrei, ganz vereinzelte mit wenigen kleinen Körnern. Ein gleiches Verhalten zeigten die in der Kultur vorhandenen Bakterien.

Gefäß 1 nach 3 Tagen: Wie am Tage vorher.

Gefäß 2 nach 4 Tagen: Weder in Haematococcen noch in Bakterien eine Spur von Volutin.

Gefäß 1 nach 7 Tagen: Die meisten Schwärmer in Palmellen verwandelt, die noch vorhandenen volutinfrei.

Gefäß 2 nach 7 Tagen: Alle Schwärmer in Palmellen verwandelt oder abgestorben.

Am vierten Tage stellte ich von dem Material aus Gefäß 2, das ich also nach Meyers Reaktion volutinfrei gefunden hatte, ein mit Delafields Hämatoxylin gefärbtes, mit salzsaurem Alkohol differenziertes Präparat her, in dem ich zu meiner Überraschung trotzdem eine ganze Anzahl gefärbter Körnchen im Protoplasma entdeckte. Aus diesem Grunde wiederholte ich den obigen Versuch in der Weise, daß ich täglich neben der Methylenblaureaktion zur Vergleichung die Hämatoxylinfärbung vornahm. Außerdem wandte ich die Meyersche Reaktion gleichzeitig auf Schwärmer einer Molischkultur an, um durch die Kontrolle ein technisches Versehen auszuschließen. Der Versuch verlief folgendermaßen:

1. Tag: Trockene Palmellen in phosphorfreie Nährlösung von der oben angegebenen Zusammensetzung übertragen.

2. Tag: Reichliche Schwärmermengen vorhanden; ein Teil mittels Hebers in frische Nährlösung gleicher Zusammensetzung überführt.

	Methylenblaureaktion:	Delafields Hämatoxylin und salzsaurer Alkohol:
3. Tag:	Keine Spur von Volutin nachweisbar (die Kontrolle an Schwärmern aus Molischs Lösung weist große Mengen Volutin nach).	Fast in allen Zellen einzelne, in manchen zahlreiche, kleine bei der Differenzierung den Farbstoff stärker als der Kern festhaltende Körnchen.
4. Tag:	Kein Volutin.	Die Körnchen färben sich nicht stärker als die Kernsubstanz.
5. Tag:	desgl.	Vereinzelte Schwärmer mit wenigen, kaum wahrnehmbaren Körnchen.

Die Schwärmer sind zum größten Teile abgestorben.

Die Versuche beweisen, daß wir es in dem Volutin tatsächlich mit einer phosphorhaltigen Verbindung zu tun haben. In den ersten Tagen (vergl. den ersten Versuch) finden wir noch Spuren von Volutin, die wohl in der Hauptmenge bereits in den zur Kultur verwandten Palmellen vorhanden waren. Dieses Material ergänzt sich wohl spärlich durch Spuren aus dem Schlamm gelöster Phosphorverbindungen; im Gefäß 2, wo dies nicht möglich ist, ist schon in kurzem jede Spur von echtem Volutin verschwunden. Das Volutin hat sich in andere Stoffe verwandelt, die wir wohl als Meyers „l-Volutin" zusammenfassen können, da sie durch 1%ige Schwefelsäure

entfärbt werden, und die ihre stetig fortschreitende Phosphorarmut durch immer schwächere Färbbarkeit erweisen.

Wie bereits erwähnt, hält Meyer das Volutin für eine Nukleinsäureverbindung. Veranlassung dazu gibt ihm das mikrochemische Verhalten. Er hat die für unseren Stoff charakteristischen Reaktionen auf eine Hefe-Nukleinsäure angewandt und nur einzelne geringe Abweichungen gefunden; größer waren die Abweichungen bei einem Nukleoproteid, dem Nukleohiston.

Der Unterschied in der elementaren Zusammensetzung der Nukleoproteide und der Nukleinsäuren zeigt sich im wesentlichen in dem bedeutend größeren Phosphorgehalt der letzteren. Zum Belege hierfür mögen folgende, dem Lehrbuche Röhmanns (1908) entnommenen Angaben dienen:

Nukleoproteide							
aus	C	H	N	O	P	S	Fe
Pankreas	51,35	6,81	17,12	21,63	1,67	1,29	0,13
Thymus	51,8	7,6	16,5	—	0,95	1,19	—
Plazenta	50,0	7,3	15,0	—	0,45	1,0	—

Nukleinsäuren						
aus	C	H	N	O	P	
Pankreas	34,2	4,4	18,2	35,6	7,7	—
	29,2	4,3	11,6	—	6,96	14,2 Cu
Thymus	35,8	4,2	15,3	—	9,3	6,25 Na
	31,4	4,6	12,8	—	7,6	17,5 Ba
Plazenta	37,7	4,3	15,3	—	9,67	—

Deutet schon das Verschwinden des Volutins in phosphorarmen Kulturen auf einen starken Phosphorgehalt hin, so zwingt zu einer solchen Annahme noch mehr das Verhalten zu den Kernfarbstoffen. Ich erwähnte bereits die Befunde Giemsas, daß die Affinität der Kernsubstanzen zu den Kernfarbstoffen an den Phosphorgehalt gebunden ist. Da die Affinität des Volutins zu diesen Farbstoffen, wie bereits erläutert, die des Chromatins erheblich übersteigt, so läßt diese Tatsache auf einen erheblich höheren Phosphorgehalt schließen.

Die Ansicht, daß das Volutin Nukleinsäuren enthält, beziehungsweise eine Nukleinsäureverbindung darstellt, erscheint somit in jeder Beziehung gut gestützt. Untersuchen wir nun, was wir über seine physiologische Bedeutung aussagen können.

Aufschluß über diesen Punkt können uns erstens die Unterschiede des Volutingehaltes in verschiedenartigen Kulturflüssigkeiten, zweitens das Verhalten des Volutins im Verlaufe einer Kultur, drittens die Veränderungen während des Lebenslaufes der einzelnen Haematococcuszelle liefern.

Wenn wir uns zunächst dem ersten Falle zuwenden, so ist zu bemerken, daß Grimme (1902), der das Volutin in Bakterien genauer untersucht hat, einen Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens auf das Auftreten des Volutins nicht be-

obachten konnte. Dagegen konnte ich bei meinem zur Entscheidung dieser Frage viel günstigeren Objekt, dem Haematococcus, beobachten, daß bei der Kultur in Erbsenwasser die Entwicklung des Volutins eine viel mächtigere war, als in Molischs Nährlösung (vgl. Fig. 29). Die einzelnen Körner erreichten gelegentlich die Größe von 5 μ bei einer Größe der ganzen Zelle von manchmal nur 15 μ.

Um zu entscheiden, ob die Ursache dieses Verhaltens durch die Konzentration der Nährlösung bedingt sei, züchtete ich den Flagellaten in drei verschiedenen Verdünnungen von Erbsenwaser ($^1/_{10}$, $^1/_5$ und $^1/_2$ eines durch Kochen von etwa 25 g Erbsen in 1 l Wasser gewonnenen Auszuges). In allen drei Kulturen war die Entwicklung des Volutins genau die gleiche. Dieses Verhalten beweist, daß nicht die absolute Masse der Nährstoffe, sondern der relative Reichtum an ganz bestimmten Stoffen, den naturgemäß das Erbsenwasser gegenüber der Nährlösung von Molisch bietet, in erster Linie an Phosphor, dann wohl auch an Stickstoff, die Vermehrung des Volutins bewirkt. Die Erscheinung steht im Einklang mit dem, was wir bezüglich der chemischen Zusammensetzung des Volutins wahrscheinlich gemacht haben.

Die konzentriertere Lösung ist zwar absolut phosphor- und stickstoffreicher, da sie aber alle Stoffe in größerer Menge bietet, bewirkt sie eine schnellere Vermehrung der ganzen Kultur, aber keine relativ stärkere Ausbildung des Volutins.

Die zweite Frage ist das Verhalten des Volutins im Verlaufe einer Kultur. Grimme (a. a. O.) fand bei verschiedenen Bakterien übereinstimmend ein regelmäßiges Wachstum der Körner bis zu einem Höhepunkt und daran anschließend ein allmähliches Verschwinden. Besonders interessant ist seine Beobachtung an Bacillus alvei, daß sich die Sporenbildung unmittelbar an den Höhepunkt der Volutinentwicklung anschließt und daß das Volutin bei der Ausbildung der Sporen aufgebraucht wird. Der Eintritt der Sporenbildung ist ein Anzeichen der beginnenden Erschöpfung des Nährbodens.

Die gleiche Beobachtung, die Grimme an Bakterien angestellt hat, konnte ich bei der Kultur des Haematococcus machen. Nachstehend gebe ich den Kulturverlauf von den drei bereits oben erwähnten Erbsenwasserkulturen wieder.

	a. Erbsenwasser $^1/_{10}$	b. Erbsenwasser $^1/_5$	c. Erbsenwasser $^1/_2$
Nach 48 Stunden	Zahlreiche, $^1/_2$—$1^1/_2$ μ (durchschnittlich 1 μ) große Körner	Wie a (Fig. 4a)	Wie a
Nach 3 Tagen	Größe der Körner $1^1/_2$—2 μ, 3 μ große nicht selten	Wie a (Fig. 4b)	Wie a
Nach 4 Tagen	Volutinmenge etwas größer, vereinzelt $3^1/_2$—4 μ große Körner	3 μ große Körner nicht selten, vereinzelt $3^1/_2$—$4^1/_2$ μ (Fig. 4c)	Wie a
Nach 6 Tagen	Die großen Körner erscheinen vielfach in große Mengen ganz kleiner Körner aufgelöst	Teils wie zwei Tage vorher, teils die Volutinkörner in Auflösung begriffen (Fig. 4d u. e)	Körner kleiner als zwei Tage vorher
Nach 8 Tagen	—	Körner zahlreich, aber sehr klein, meist weniger als 1 μ groß. $1^1/_2$—2 μ große Körner selten (Fig. 4f)	Wie zwei Tage vorher

Wie bei Bakterien zeigt sich also auch bei Haematococcus eine allmähliche Zunahme des Volutins bis zu einem Höhepunkt und daran anschließende Abnahme. Der Einfluß des verschiedenen Nahrungsreichtums der Lösung macht sich in verschieden langer Dauer des gleichen Verlaufes bemerkbar. In Kultur b ist das gleiche Bild, das wir in Kultur a am 6. Tage antreffen, erst am 8. erreicht und in Kultur c sind auch an diesem Tage die Volutinkörner noch größer als in b.

In der Textfigur 4 habe ich versucht ein Bild der Volutinentwicklung in der Kultur b zu entwerfen. Die Zellen sind mit dem Zeichenapparat wiedergegeben und zeigen die Volutinmengen, die auf dem optischen Durchschnitt sichtbar sind. Durch die Vergleichung mit den Angaben der Tabelle wird die Figur ohne weiteres verständlich. Hinweisen möchte ich nur auf Fig. 4 d und e, zwei Bilder die es veranschaulichen, in welcher Weise die großen Volutinkörner bei der Erschöpfung der Nährlösung verbraucht werden. Die Auflösung findet von innen heraus statt und die äußere Schale zerfließt zu kleinen Tröpfchen, so daß wir schließlich das eigentümliche Bild, in einem Kreise gelagerter kleinster Volutinkörner erhalten (Fig. 4 e) ein Bild, das auch in Fig. 4 f noch angedeutet ist.

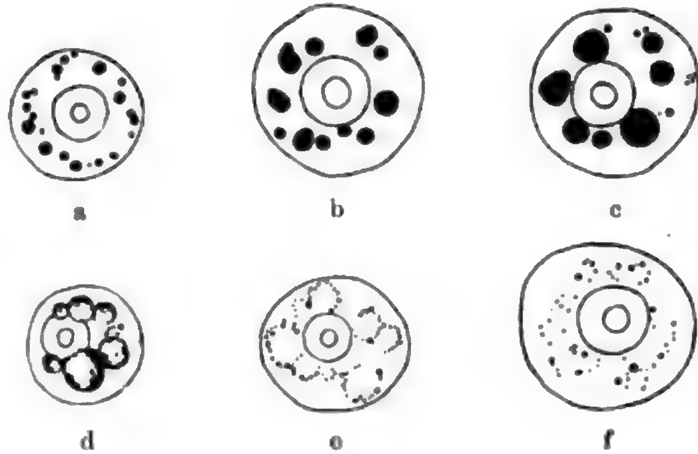


Fig. 4.

Ganz besonders wichtig ist aber, wie wir gleich erkennen werden, die allgemein zu beobachtende Erscheinung, daß die Auflösung der Körner auf der dem Kerne zugekehrten Seite stets weiter vorgeschritten ist und dementprechend die Kreise kleiner Körner nach dem Kerne zu meist offen sind.

Es ist nun noch nötig, auf das Verhalten der Volutinkörner während des Lebenslaufes der Haematococcuszelle einzugehen. Da fällt bei der Durchmusterung der Präparate auf, daß durchschnittlich diejenigen Zellen, die gerade in der Teilung begriffen sind oder unmittelbar davor stehen, eine auffallend geringere Volutinentwicklung zeigen, als die übrigen, und zwar ist es weniger eine Abnahme der Zahl der Körner, die auffällt, als die stark abgeschwächte Affinität zu dem Hämatoxylin. Die Körner sind vielfach so blaß gefärbt, daß man sie kaum noch erkennt (vergl. Fig. 26, 27), während andere im gleichen Präparat befindliche, also den gleichen Extraktionsbedingungen durch salzsauren Alkohol ausgesetzte Zellen tiefviolett gefärbte Volutinkörner besitzen (Fig. 17). Die Veränderungen der Volutinkörner beim Herannahen der Teilung entsprechen also den oben beschriebenen bei der Kultur der Zellen in phosphorfreier Nährlösung.

Die verhältnismäßig starke Volutinentwicklung in den Figuren 23 und 28 erklärt sich daraus, daß die Lebenstätigkeit der Zelle nach der Teilung bereits wieder kräftig eingesetzt hat. Denn trotzdem sich die Sprößlinge noch in der gemeinsamen

Hülle befinden, zeigt der Bau des Kernes, daß die Teilung schon einige Zeit zurückliegt.

Ein Verschwinden der Volutinkörner bei der Teilung hat auch Lauterborn (1896) bei Diatomeen beabachtet.

Auf Grund der hier wiedergegebenen, aus den Befunden anderer Forscher und eigenen Beobachtungen gewonnenen Tatsachen, bin ich zu einer Auffassung der Bedeutung der Volutinkörner gelangt, die ich im folgenden schildern will. Wenn diese Auffassung zu ihrer sicheren Begründung auch noch mancher Stütze bedarf, so hat sie doch den Vorzug, mit allen über das Volutin bekannten Tatsachen sowie mit unseren gegenwärtigen Kenntnissen von den Lebensvorgängen in der Zelle in Übereinstimmung zu stehen.

Im Zusammenhange mit der Lebenstätigkeit der Zelle steht nach den Befunden R. Hertwigs und seiner Schüler (vergl. Hertwig 1908) ein Wachsen des Zellkernes auf Kosten des Protoplasmas. Wird infolge andauernder starker Funktion der Kern demzufolge zu groß, so tritt eine Störung der Lebensvorgänge ein, die Zelle gerät in einen „Depressionszustand" (Maupas [1888] bei Infusorien, R. Hertwig [1904] bei Actinosphaerium), aus dem sie sich nur durch einen Regulationsvorgang, durch Abstoßung chromatischer Substanz („Chromidien" bei Actinosphaerium) befreien kann.

Solche Depressionszustände treten in Infusorienkulturen, denen man die denkbar günstigsten Lebensbedingungen bietet, mit großer Regelmäßigkeit auf. Sie äußern sich in Konjugationsepidemien, abweichenden Kernverhältnissen und führen nicht selten zu einem völligen Aussterben der ganzen Kultur.

Es ist auffällig, daß derartige Beobachtungen noch an keinem der Organismen gemacht worden sind, die Volutin in ihrem Protoplasma beherbergen. Wie ich bereits an anderer Stelle erwähnt habe, habe ich Haematococcusschwärmer in Molischs Nährlösung drei Vierteljahre fortgezüchtet, ohne von einer Erschöpfung der Kultur irgend etwas zu bemerken. Fast ebenso lange züchtete ich Euglena gracilis in einem Überfluß von Nahrung in der Nährlösung Zumsteins.

Wenn die Kerne dieser Flagellaten demnach ein solches Übermaß von Größe nicht erreichen, das bei anderen Zellen den Depressionszustand bedingt, so müssen sie befähigt sein, die bei starker Funktion der Zelle im Übermaß an sie herantretenden Stoffe zurückzuweisen und dadurch eine entsprechende Regulation auszuüben, wie die Kerne anderer an den Rand einer Depression geratener Zellen durch Ausstoßung von Chromatin. Die vom Plasma gebildeten, vom Kern aber nicht aufgenommenen Stoffe müssen sich als Reservestoffe anhäufen.

Die Nukleoproteide des Zellkerns lassen sich spalten in Nukleinsäuren und Eiweiß. Wenn wir aus diesem Vorgang einen Schluß auf ihre Synthese ziehen dürfen, so können wir annehmen, daß die vom Kern zurückgewiesenen Stoffe als Vorstufen zu den Nukleoproteiden Nukleinsäuren oder Nukleinsäureverbindungen sind, also die gleichen Stoffe, die die Volutinkörner mit großer Wahrscheinlichkeit darstellen.

Dafür, daß das Volutin ein besonderer Reservestoff für den Kern ist, spricht auch der Umstand, daß es kurz vor der Teilung der Zelle in großer Menge verbraucht wird. Wie genaue Messungen an Infusorien gezeigt haben, findet gerade zu dieser

Zeit ein besonders starkes Wachstum des Kernes statt (vergl. die Wachstumskurven bei Popoff (1908a) S. 281—283). Da diese Untersuchungen den experimentellen Beweis einer allgemeinen zellphysiologischen Anschauung (R. Hertwig) erbringen, so sind wir trotz der Verschiedenheit des Objektes berechtigt, ihre Ergebnisse auf den uns vorliegenden Organismus zu übertragen.

Das Kernwachstum unmittelbar vor der Teilung, das bei den kompakten Infusorienkernen an der Größenzunahme ohne weiteres meßbar ist, macht sich bei dem locker gebauten Kerne des Haematococcus in einer zahlenmäßig nicht ausdrückbaren Chromatinbereicherung bemerkbar.

Bei gleichbleibender Nährstoffaufnahme der Zelle muß sich das gesteigerte Bedürfnis des Kerns nach phosphorreichen Eiweißstoffen in einer Abnahme des Volutins — wie es auch geschieht — bemerkbar machen.

Zu alledem kommt noch die oben betonte Beobachtung, daß, wo wir eine Auflösung der Volutinkörner beobachten, diese auf der dem Kerne zugewandten Seite am stärksten ist.

Wenn das Volutin den Regulationsstoff in dem Wechselverhältnis zwischen Kern und Protoplasma darstellt, so ist es klar, wann allein ein Volutin besitzender Organismus in einen Depressionszustand geraten kann; niemals durch ein Übermaß der Nahrungszufuhr, sondern nur durch den Mangel eines für das Kernwachstum wichtigen Stoffes, durch die Unmöglichkeit, Volutin zu bilden. In Übereinstimmung hiermit finden wir, daß in den phosphorfreien Kulturen in dem Augenblicke, da die letzte Spur des Reservestoffes verschwindet, die Zelle abstirbt.

In den Rahmen der dargelegten Auffassung über die Natur und die Bedeutung des Volutins fügen sich sehr gut die Vorgänge ein, die bei der Sporenbildung der Bakterien beobachtet worden sind; ja, die Auffassung ist geeignet, auf das ganze, noch so dunkle Gebiet der Kernverhältnisse bei Bakterien ein Licht zu werfen.

Bei Bacillus alvei beobachtete Grimme (1902), daß das in der Zelle vorhandene Volutin bei der Sporenbildung aufgebraucht wird. Die gleiche Beobachtung machte kürzlich Amato (1908), der anscheinend die Arbeiten A. Meyers und Grimmes nicht kannte und das Volutin geradezu für ein „Äquivalent des Kernes" hält, bei einer ganzen Anzahl von Bakterien: Dem Kartoffelbazillus, B. subtilis, B. mycoides und Spirillum volutans.

Diese Befunde stimmen mit denen Schaudinns (1902, 1903) an B. bütschlii und B. sporonema überein. Während bei letzterer Form die mit Kernfarbstoffen färbbaren, bei der Sporenbildung verwendeten Gebilde durch den Mangel jedes feineren Baues mit den sonst beobachteten Volutinkörnern jedenfalls übereinstimmen, liegt bei B. bütschlii die Sache viel schwieriger.

Bekanntlich fand Schaudinn bei diesem Organismus als Vorbereitung zur Sporenbildung außerordentlich regelmäßige Anordnungen der in der Zelle befindlichen chromatischen Brocken. Diese treten schließlich zum Teil zu zwei einem Zellkerne sehr ähnlichen Gebilden zusammen, die bei der Ausbildung der Sporen in diese mit einbezogen werden. Schaudinn selbst erklärt diese Bildungen für echte Kerne, die sich vor den Augen des Beobachters aus einem in der Zelle verteilten Chromidial-

apparate bilden. Ob die anfangs in der Zelle verteilt liegenden Körnchen etwa Volutin, wie A. Meyer (1903) in einer Kritik der Arbeit Schaudinns annimmt, oder bereits echtes Chromatin darstellen, müßte durch die mikrochemischen Reaktionen A. Meyers, die Schaudinn seinerzeit noch nicht bekannt waren, entschieden werden. Jedenfalls liegt die Gleichartigkeit dieses Vorganges mit der sonst bei Bakterien beobachteten Verwendung des Volutins zur Sporenbildung auf der Hand. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß ähnliche Kernbildungsvorgänge wie bei B. bütschlii bei anderen Bakterien erst nach Ausbildung der Sporenhülle eintreten und daß nur diese Hülle durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen und ihre Undurchlässigkeit für Farbstoffe die Beobachtung solcher Vorgänge sowohl an der lebenden wie an der gefärbten Zelle verhindert.

Noch zahlreiche andere Forscher haben in neuerer Zeit regelmäßige, sich chromatisch färbende Strukturen in Bakterienzellen beschrieben. Es würde zu weit führen, hier im einzelnen darauf einzugehen. Es kam mir nur darauf an, durch einige Beispiele meine Anschauung zu stützen, daß man von einer gründlichen Kenntnis der physiologischen Bedeutung des Volutins aus am ehesten ein Verständnis der Kernfrage der Bakterien gewinnen dürfte.

IV. Die Teilung.

Der Teilungsprozeß bei Haematococcus pluvialis ist bisher von keinem Beobachter genauer untersucht worden. Cohn (1850) gibt an, daß sowohl Längs- als Querteilung vorkommen kann. Perthy (1852) gibt Längsteilung an, bei der sich die Hülle gleichfalls teilt; doch beziehen sich seine Beobachtungen auf Doppelbildungen. Auch der letzte Untersucher, Wollenweber (1908), tritt für Längsteilung ein, ohne auf den Vorgang selbst genauer einzugehen. Sonst geben alle Forscher übereinstimmend an, daß die Vermehrung in einer Querteilung besteht und in den frühen Morgenstunden vor sich geht. Beide Beobachtungen sind unrichtig, und der erstere Irrtum ist, wie wir sehen werden, die Folge des letzteren. Wenn man kurz nach Tagesanbruch eine Kultur untersucht, so findet man Zwei- und Vierzellenstadien oft in großer Menge vor. Bei den Zweizellenstadien liegen in der eiförmigen Hülle die beiden Tochterindividuen hintereinander. Am vorderen Ende der Hülle sind häufig noch die beiden Geißeln vorhanden, die manchmal auch noch Beweglichkeit zeigen; in jedem Falle aber sind noch die beiden im Winkel auseinanderweichenden Röhren in der Hülle sichtbar und gestatten eine Orientierung, die gewöhnlich zeigt, daß die beiden Teilprodukte tatsächlich hintereinander gelegen sind.

Solche Bilder stellen natürlich das Endstadium des ganzen Teilungsvorganges dar, ein Stadium, das aus später zu erörternden Gründen ziemlich lange andauert und daher in der Morgenfrühe noch bemerkbar ist. Dagegen findet die Teilung selbst viel früher statt, und zwar beginnt sie im Sommer 4—5 Stunden nach Anbruch der Dunkelheit, also zwischen 12 und 1 Uhr nachts. In den langen Winternächten ist die Zeit des Teilungsbeginnes unregelmäßiger, ich fand im November gelegentlich Teilungen schon um 9 Uhr abends, doch scheinen auch in dieser Jahreszeit die meisten Teilungen erst nach Mitternacht zu beginnen.

Angaben von Querteilungen bei Flagellaten haben von vornherein etwas Befremdliches. Allgemein finden wir sonst bei Flagellaten, wie auch sonst im Tierreich bei so stark polar differenzierten Zellen Längsteilung vor. Es ist ja ohne weiteres verständlich, daß durch eine solche eine erbgleiche Teilung am besten gewährleistet wird. Besonders auffallend sind die Angaben der Forscher über die Teilung bei den dem Haematococcus nahe verwandten Chlamydomonaden, bei denen in der gleichen Gattung Formen mit Längs- und solche mit Querteilung, vorkommen sollen (vergl. Dill 1895).

Alles dies machte eine genaue Beobachtung des Teilungsvorganges wünschenswert.

Die Untersuchung der Teilungsvorgänge am lebenden Objekt begegnet gewissen Schwierigkeiten. Wie schon früher erwähnt, ist in den Schwärmern, die noch größere Mengen Hämatochrom enthalten, vom Kern nichts zu bemerken; bei den durch längere Kultur in Nährlösung grün gezüchteten Schwärmern dagegen ist die Vermehrungsgeschwindigkeit stark herabgesetzt. Dazu kommt, daß die zufällige Lage des Objekts eine für die Beobachtung günstige sein muß und daß ein normaler Ablauf des Teilungsvorganges nur zu erwarten ist, wenn dieser bald nach Herstellung des Präparats einsetzt; denn auch bei vorsichtigem Flüssigkeitszusatz ist das Auftreten ungünstiger Lebensbedingungen auf die Dauer nicht zu vermeiden, auch scheint eine langandauernde starke Belichtung einen hemmenden Einfluß auszuüben. Aus alledem geht hervor, daß es einige Geduld erfordert, bis es einmal gelingt, eine Teilung im Mikroskope verfolgen zu können.

Die ersten Anzeichen der bevorstehenden Teilung machen sich dadurch bemerkbar, daß der Kern sich dem geißeltragenden Pole der Zelle dicht anlegt (Fig. 14 u. 20). Die feinen Protoplasmafortsätze der Zelle sind nicht mehr wahrnehmbar. Häufig ist der Schwärmer um diese Zeit schon zur Ruhe gekommen oder hat sogar schon seine Geißeln verloren. Nur solche ruhenden Individuen sind naturgemäß zur Beobachtung geeignet. Im Binnenkörper des Kernes ist meist deutlich eine wabige Struktur zu erkennen. Sie ist vielleicht immer vorhanden, aber bei zentraler Lage des Kerns nicht bemerkbar, da durch das darüberlagernde Chlorophyll und andere Zellbestandteile das Bild des optischen Durchschnittes getrübt wird. Das Kernretikulum ist viel undeutlicher, doch gelegentlich auch wahrzunehmen (Fig. 14). Wenn die Zelle vorher noch längsoval war, so kugelt sie sich jetzt vollständig ab und beginnt am vorderen Pole, an dem der Kern lagert, sich etwas abzuplatten.

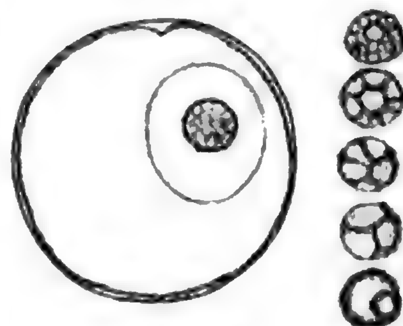


Fig. 5.

Vor Beginn der Kernteilung beobachtet man eine lebhafte Tätigkeit im Nukleolus. Das feinere Wabenwerk scheint zunächst zu einer größeren Anzahl Vakuolen zusammenzufließen (Textfig. 5). Bei weiterer Beobachtung dieses Bildes bemerkt man, daß eine Scheidewand nach der anderen zwischen diesen Vakuolen aufgelöst wird; schließlich ist der Nukleolus von einem einzigen hellen Raume erfüllt. Die Textfig. 5 stellt den Vorgang dar, soweit er an dem gleichen Objekte, einer Palmelle, verfolgt werden konnte. Dieser Vorgang scheint

mir nur durch eine Substanzabgabe an das Kernretikulum erklärbar zu sein. Zwar habe ich den Austritt kleiner Teilchen im Leben nie beobachten können, doch sprechen dafür zahlreiche gefärbte Präparate, in denen man unmittelbar am Nukleolus kleine Körnchen liegen sieht, die sich durch ihren scharfen Umriß und ihre stärkere Färbbarkeit von den übrigen Chromatinbrocken deutlich unterscheiden (Fig. 18, 19, 25). Besonders Fig. 18 ist wohl nur in dem angegebenen Sinne zu deuten. Auch die Tatsache, daß zu einem chromatinreichen Kernretikulum gewöhnlich ein stark vakuolisierter Nukleolus gehört, weist auf einen derartigen Zusammenhang hin (Fig. 18, 19, 36).

Dieses Verhalten des Nukleolus bestätigt die Auffassung R. Hertwigs (1902) von seiner Bedeutung: „Das aus dem Protoplasma stammende Chromatin wird in der Nukleolarmasse kondensiert und dadurch organisiert.“

Vakuolen im Nukleolus bildet auch Wollenweber (Taf. XV, Fig. 13 e) ab; er bemerkt dazu: „Nukleoli zeigen manchmal mehrere weiße Kügelchen, die auf irgendwelche Einlagerungskörper schließen lassen“.

Eine zunehmende Vakuolisierung des Nukleolus vor der Teilung hat ferner Merton (1908) bei Pleodorina beobachtet.

Die Kernteilung setzt damit ein, daß der Binnenkörper plötzlich verschwindet und gleichzeitig der Umriß des Kerns nicht mehr wahrnehmbar ist. Etwa während fünf Minuten wird von den Vorgängen, die sich nunmehr im Kerne abspielen, dem Auge nichts sichtbar, da taucht plötzlich ein Schatten auf, ein zarter stabförmiger Schatten mit unsicheren Umrissen, der senkrecht zur Oberfläche der Zelle steht und dem vorderen Pol dicht anliegt. Er bildet den Querdurchmesser eines undeutlichen spindelförmigen Gebildes, das sich durch etwas abweichende Lichtbrechung von der Umgebung abhebt und in dem das Auge eine zarte Längsstreifung zu entdecken glaubt: Die Zentralplatte ist gebildet. Kaum hat man diese ganze Bildung ins Auge gefaßt, nach etwa zwei Minuten, bemerkt man, daß sich der Schatten teilt; seine beiden Hälften rücken mit nahezu sichtbarer Geschwindigkeit auseinander. Etwa halbwegs zu den Spindelpolen scheinen sie einige Augenblicke zur Ruhe zu kommen; für einige Sekunden bleibt die Entfernung zwischen beiden Platten die gleiche. Da plötzlich verblassen die beiden Schatten und sind im nächsten Augenblicke verschwunden; ein Vorrücken bis zu den Spindelpolen ist nicht zu verfolgen. Gleichzeitig entschwindet auch das ganze Spindelgebilde den Blicken. In diesem Augenblicke setzt eine kräftige Einschnürung der Zelle am vorderen Pole ein, während am Gegenpol davon noch nichts zu bemerken ist. Nach Ablauf von fünf Minuten seit dem Verschwinden der Tochterplatten werden in den beiden durch die Einschnürung der Zelle gebildeten Winkeln die Umrisse der Tochterkerne, die sich durch ihre außerordentliche Kleinheit auszeichnen, bemerkbar. In ihnen werden gleichzeitig die Binnenkörper wahrnehmbar. Von der Auflösung des Mutterkerns bis zum Sichtbarwerden der Tochterkerne ist die außerordentlich kurze Zeitspanne von 15 Minuten verstrichen.

Zeigen die eben beschriebenen Vorgänge einen engen Zusammenhang zwischen Kern- und Zellteilung, so ist doch anderseits eine gewisse Unabhängigkeit zwischen beiden nachweisbar. Während in einem von mir verfolgten Falle vor der Spindel-

bildung noch keine Spur einer Einschnürung des Zelleibes bestand, habe ich anderseits häufig Bilder gesehen, bei denen die Einschnürung des vorderen Pols schon eine recht erhebliche war, der Kern sich aber immer noch nicht zur Teilung anschickte. Bei der späteren Beschreibung eines abweichenden Teilungsverlaufes wird sich die Unabhängigkeit beider Vorgänge noch deutlicher ergeben. Ich glaube daher das plötzliche Einschneiden des Zellkörpers nach Auflösung der Spindel rein mechanisch erklären zu müssen. Die dicht an der Oberfläche liegende Spindel verzögert durch ihren Widerstand die Einschnürung; es wird so eine Spannung erzeugt, die bei Auflösung der Spindel ganz plötzlich beseitigt wird.

Die an der lebenden Zelle beobachteten Kernvorgänge während der Teilung geben uns eine Handhabe zur richtigen Aneinanderreihung gefärbter Präparate, wie ich sie in den Fig. 18—28 vorgenommen habe.

Auf das bereits erwähnte, in Fig. 18, 19 abgebildete Stadium des chromatinreichen Kernretikulums und des chromatinarmen Nukleolus folgt das in Fig. 20 wiedergegebene Bild. Es geht zweifellos der Bildung der Zentralplatte unmittelbar vorher, da ich es immer nur in dicht der Zelloberfläche angelagerten Kernen gefunden habe. Das ganze Chromatin liegt der Kernmembran dicht an; Fig. 20 a zeigt das Bild, das man bei Einstellung der Kernoberfläche erhält. Die Aneinanderreihung der einzelnen Chromatinbrocken stellt ohne Zweifel die Chromosomenbildung dar. Zwischen diesem Stadium und der ausgebildeten Spindel mit Zentralplatte (Fig. 21) habe ich merkwürdigerweise trotz Durchmusterung eines reichen Materials, in dem mir jedes andere Stadium häufig zu Gesichte kam, keinen Übergang finden können. Nicht ausgeschlossen ist es, daß die oberflächliche Lagerung des Chromatins ein durch osmotische Strömungen bei der Fixierung hervorgerufenes Kunstprodukt ist und daß tatsächlich auf diesem Stadium das Chromatin frei im Kernraume schwimmt, um sich zur Zentralplatte anzuordnen. Gleichzeitig löst sich auch der Nukleolus auf; irgendwelche Beziehungen zur Spindelbildung habe ich nicht beobachten können.

Die nun folgenden Kernzustände bieten die bekannten Bilder der typischen Mitose dar und verdeutlichen nur das, was bereits am lebenden Kerne zu bemerken war. Centrosomen habe ich nicht nachweisen können. Die Zahl der Chromosomen ist ziemlich schwierig festzustellen. Nur einmal fand ich ein günstiges Teilungsbild, das eine genaue Zählung ermöglichte. Es war eine Kernspindel, in der die Tochterplatten eben gebildet waren. Da die Achse der Spindel zur Bildebene etwas geneigt war, so traten bei Drehung der Mikrometerschraube die tieferliegenden Chromosomen immer neben den höheren auf. In jeder Tochterplatte zählte ich 32 Chromosomen.

Die stets scharfe Abgrenzung der Spindel gegen das umgebende Protoplasma macht es wahrscheinlich, daß die Kernmembran erhalten bleibt, bis das Chromatin an den Spindelpolen angelangt ist und sich zu den Tochterkernen differenziert.

In den in Bildung begriffenen Tochterkernen sieht man einen großen Teil des Chromatins im Mittelpunkte liegen. Diese Lage steht, wie die Fig. 22 u. 32 deutlich zeigen, im Zusammenhange mit der Bildung des neuen Nukleolus. Ob hierzu eine Anzahl der Chromosomen völlig aufgebraucht werden oder aber die einzelnen Chromosomen nur Teile abgeben, läßt sich nicht entscheiden; das letztere ist wohl wahr-

scheinlicher. Sehr häufig, vielleicht sogar in 50% der Fälle, kann man beobachten, daß der Nukleolus zunächst in der Zweizahl gebildet wird (Fig. 24), diese beiden Teile verschmelzen jedenfalls sehr bald miteinander, da man in den freigewordenen Zellen stets nur einen Nukleolus beobachtet. In den noch unfertigen Kernen entdeckt man neben den Chromatinbrocken nur einige unregelmäßige achromatische Stränge. In etwas späteren Bildern hat sich daraus das feine Kerngerüst gebildet, in dessen Knotenpunkten die aus der Zerspaltung der Chromosomen hervorgegangenen Chromatinbrocken, zunächst groß und weniger zahlreich, später klein und regelmäßig verteilt, liegen (Fig. 28 u. 23).

Meine Abbildungen gefärbter Teilungsstadien zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit den Abbildungen Mertons (1908) in einer Arbeit über Pleodorina. Der Verfasser hat nach seiner eigenen Angabe die verschiedenen Bilder des fixierten Materials in eine Reihenfolge gebracht, wie sie ihm am einleuchtendsten erschien, ohne sie jedoch als ganz sicher anzusehen. Dabei hat er zwei Stadien vor die Spindelbildung gestellt (seine Fig. 16 u. 17) die morphologisch genau mit zwei Zuständen übereinstimmen, die bei Haematococcus die Ausbildung der Tochterkerne darstellen (meine Fig. 22). Diese Übereinstimmung zwingt uns wohl zu der Annahme, daß auch bei Pleodorina diese Stadien nicht an den Anfang sondern an das Ende der Kernteilung gehören.

Nächst der Arbeit Mertons, der einzigen, die eine genaue Schilderung des Teilungsvorganges bei einem mit Haematococcus verwandten Organismus enthält, sind die Untersuchungen Dangeards (1898, 1901) zu besprechen. Der Forscher hat mitotische Teilung bei zahlreichen Gattungen der Familie der Chlamydomonadinen, bei Chlorogonium, Phacotus, Chlamydomonas, Carteria und Polytoma beobachtet. Bei der letzten Gattung hat zuerst Blochmann (1894) eine Mitose beschrieben. Die Teilung bei Polytoma wird auch von Prowazek (1903) geschildert; er gibt an, daß aus dem Innenkörper (Nukleolus) die Spindelfasern hervorgingen.

Wo Dangeard eingehendere Angaben über Einzelheiten des Teilungsvorganges macht, stimmen sie gut mit meinen Beobachtungen überein. So gibt er von Chlorogonium euchlorum an, daß der Nukleolus bei herannahender Teilung an Färbbarkeit abnimmt und schließlich verschwindet, sowie, daß die Chromosomen nicht aus ihm, sondern aus den im Kernraum vorhandenen Chromatinbröckchen entstehen.

Bezüglich der Chromosomenzahlen sei noch darauf hingewiesen, daß Dangeard in den meisten der von ihm untersuchten Gattungen nur wenige Chromosomen, 6, 8, 10 oder 12 gezählt hat. Nur von Clamydomonas gibt er die Zahl auf etwa 30 an, während ich, wie bereits erwähnt, bei Haematococcus 32 Chromosomen gezählt habe. Es scheint mir dies ein neuer Beweis für die große Verwandtschaft zwischen beiden Gattungen zu sein.

Bemerkenswert ist schließlich ein kurzer Hinweis Hartmanns (1904) auf die mitotische Teilung bei Volvox globator, da nach dem genannten Forscher „dabei Centrosomen und schleifenförmige Chromosomen in geringer Anzahl auftreten“.

Nach der Bildung der Tochterkerne geht die weitere Zellteilung ziemlich langsam vor sich. Die am vorderen Pole aufgetretene Furche umläuft allmählich die ganze

Peripherie der Zelle bis zum Gegenpol. Nach etwa einer halben Stunde ist die Zellteilung beendet. Während dieser Zeit sind die Kerne aus ihren Winkeln heraus bis an den Mittelpunkt der Teilungsebene gerückt und liegen sich dort gegenüber. Dabei sind sie — wohl einfach durch Flüssigkeitsaufnahme — sehr stark herangewachsen.

Über die Verteilung des Chlorophylls in der Zelle während der Teilung habe ich nichts Genaues beobachtet. Die Abgrenzung der oberflächlichen chlorophyllführenden Schicht gegen die innere chlorophyllfreie ist verwischt; der Chlorophyll scheint in der ganzen Zelle verteilt zu sein. Hiermit stimmen die Bilder überein, die uns das gefärbte Material liefert. Sie zeigen, daß das Protoplasma in der Umgebung des Kernes während der Teilung angereichert und sein Bau dort feinwabiger geworden ist, während seine Masse nahe der Oberfläche abgenommen hat.

Ferner möchte ich noch auf das Verhalten des Stigmas während der Teilung hinweisen. Ich habe stets beobachtet, daß das alte Stigma aufgelöst wird. Das gleiche gibt auch Wollenweber in seiner letzten Arbeit (1908) an, während er in einer früheren Mitteilung (1907) für eine Teilung des Stigmas eingetreten war.

Während der Protoplasmateilung der Mutterzelle findet nun noch ein anderer Vorgang statt, dessen Ergebnis die irrtümliche Ansicht von einer Querteilung bei Haematococcus veranlaßt hat, nämlich eine Drehung der ganzen Zelle um einen Winkel von 90°. Das ursprüngliche Vorderende des Flagellaten bleibt, auch wenn die Geißeln frühzeitig verloren gehen, während der ganzen Teilung erkennbar, da die beiden Röhren, in denen die Geißeln lagerten, stets deutlich sichtbar bleiben. In dem Maße, wie die Teilungsfurche tiefer und tiefer einschneidet, dreht sich der Zellkörper nach links oder nach rechts mehr und mehr um seine Achse, so daß nach beendeter Durchschnürung die beiden Teilhälften hintereinander in der ursprünglichen Längsrichtung liegen (Fig. 23). Es findet also bei Haematococcus genau der gleiche Vorgang statt, wie er von Goroschankin (1890) bei Chlamydomas Braunii und von Dill (1895) bei Ch. longistigma beschrieben worden ist.

Die Erklärung dieses eigentümlichen Vorganges stößt auf keine Schwierigkeiten; seine Ursache ist eine rein mechanische. Je tiefer die Teilungsebene einschneidet, umsomehr wächst natürlich der Querdurchmesser der Zelle. Da die längsovale Hülle starr und unnachgiebig ist, so wird der immer breiter werdende Organismus naturgemäß den Raumverhältnissen entsprechend verschoben.

Schon oben wurde bemerkt, daß nach beendeter Teilung beide Tochterkerne in die Mitte der Teilungsebene rücken. Es ist dies der sichtbare Ausdruck einer abermaligen Drehung beider Tochterindividuen, durch die bewirkt wird, daß die Längsachse eines jeden wieder mit der ursprünglichen Längsachse der Mutterzelle zusammenfällt, und zwar so, daß die vorderen Pole beider gegeneinander gerichtet sind. In dieser Lage treten die Zellen in die nächste Teilung ein.

Die Drehung um 90°, die bei der vorhergehenden Teilung während der Zelldurchschnürung stattfand, hat sich diesmal also bereits vor Beginn der Teilung vollzogen. Die Ursache dieser Verschiedenheit liegt klar zutage. Ein Blick auf die Fig. 23 zeigt, daß die beiden Zellen in der Lage, die sie nach ihrem Entstehen in der Hülle einnehmen, in ihrer seitlichen Ausdehnung noch mehr beengt sind, als es

ihre Mutterzelle war. Sie müssen also schon bei dem Bestreben, ihre Längsachse zum Zwecke der Teilung zu verkürzen, notwendig eine Drehung erleiden.

Während der zweiten Teilung findet nun in der Regel nochmals eine Verschiebung statt. Sobald die beiden dicht aneinandergelagerten Zellen (Fig. 23) sich in der Mitte einzuschnüren beginnen und sich dementsprechend seitlich der Mittelebene vorwölben, drängen sich die so entstehenden Buckel seitlich aneinander vorbei. Bei fortschreitender Durchschnürung werden die Vorwölbungen naturgemäß immer kräftiger und die Drehung setzt sich fort, bis die Verbindungsachsen je zweier der nun entstandenen Sprößlinge senkrecht zueinander stehen (Fig. 28) und hiermit die bestmögliche Ausnutzung des vorhandenen Raumes erreicht ist. Die Mittelpunkte der vier Zellen liegen nun zueinander, wie die Ecken eines Tetraeders[1]).

An diese zweite Teilung kann sich nun noch eine dritte anschließen. Manche Forscher haben das häufiger gesehen; ich habe jedoch nur ganz vereinzelt einmal acht Sprößlinge in einer Hülle liegen sehen und kann über den Teilungsvorgang keine Beobachtungen mitteilen.

Von dem geschilderten, die Regel bildenden Teilungsprozesse habe ich eine eigenartige Abweichung beobachtet. Vereinzelt treten solche abweichenden Teilungsbilder auch in lebhaft gedeihenden Molischkulturen auf (Fig. 31); sehr häufig aber sind sie in Erbsenwasserkulturen auf dem Höhepunkt der Schwärmerentwicklung. Hier kann der normale Teilungsvorgang ganz in den Hintergrund treten.

Das Wesen der zu besprechenden Abweichung besteht in einem Vorauseilen der Kernteilung vor der Teilung des ganzen Zelleibes. Während normalerweise die Einschnürung des Protoplasmas spätestens gleichzeitig mit der Bildung der Zentralplatte einsetzt, finden wir in Fig. 30 schon die Tochterplatten gebildet, während noch keine Spur beginnender Zellteilung zu bemerken ist. In Fig. 31 liegen zwei Kerne in einer völlig runden Zelle und in Fig. 33 sind die zwei vorhandenen Kerne sogar schon in erneuter Teilung begriffen.

Die Ursachen der Verzögerung, die die Durchschnürung des Zelleibes erleidet, werden uns verständlich, wenn wir die Bilder betrachten, die die Zellteilung selbst darbietet (Fig. 32). Die Zelle erscheint wie mit einem Messer durchschnitten, mit scharfkantigen Furchungsrändern; ein Bild, das natürlich nur dadurch zustande kommen kann, daß die Zelle an der geringsten Ausdehnung nach irgend einer Richtung während der Teilung verhindert wird. Es ist klar, daß eine solche Hinderung den Teilungsvorgang überhaupt erschwert und ihn daher soweit hinauszögert, bis die Teilungsenergie der Zelle trotz der Zwangslage die Durchschnürung erzwingt.

Gelegentlich gelingt es der Zelle nicht, der Schwierigkeit Herr zu werden; sie bleibt trotz des Besitzes zweier Kerne ungeteilt. So entstehen die wiederholt beschriebenen Doppelformen mit zwei Geißelpaaren, von denen zuletzt Hazen einige abgebildet hat. Den Beweis, daß es sich dabei um zweikernige Formen handelt, liefert meine Fig. 35.

---

[1]) Alle die bei der Teilung stattfindenden Drehungen habe ich in meiner vorläufigen Mitteilung (1909) durch eine schematische Darstellung des Teilungsvorganges veranschaulicht.

Auch die eigentümliche Teilungsmißbildung, die ich in Fig. 34 wiedergegeben habe, gehört wohl in diesen Zusammenhang. In der gemeinsamen Hülle liegen eine einkernige und eine dreikernige Zelle. Die Entstehung dieses Gebildes ist schwer verständlich; die Teilung kann nur als eine Art Sproßung vor sich gegangen sein.

Das Hemmnis, das alle diese Vorgänge verursacht, ist natürlich in der Zellhülle zu suchen. Bereits im ersten Abschnitte der Arbeit wies ich, im Einverständnis mit Wollenweber, darauf hin, daß in konzentrierten Nährlösungen die Hülle nur wenig von dem Zellkörper absteht. Dazu kommt, daß sie gleichzeitig noch eine gesteigerte Festigkeit und Widerstandsfähigkeit zu haben scheint. Dafür spricht der Umstand, daß sie an fixiertem Material aus Erbsenkulturen viel besser erhalten bleibt und sichtbar ist, als etwa an Schwärmern aus Molischkulturen.

Die Teilungsvorgänge, die wir bei Haematococcus kennen gelernt haben, sind geeignet, auf die eigenartigen Verhältnisse bei den nahe verwandten Chlamydomonasarten ein Licht zu werfen. Bekanntlich teilt Dill (1895) die Arten dieser Gattung in drei Gruppen: in solche mit Längsteilung, solche, bei denen die Teilung als Längsteilung angelegt, aber als Querteilung beendet wird, und solche mit Querteilung. Nehmen wir an, daß die Erklärung, die ich für die Teilungsart des Haematococcus gegeben habe, auch für Chlamydomonas zutreffend ist, so müssen wir erwarten, daß die in ihrer Gestalt der Kugelform am nächsten kommenden Chlamydomonaden sich längs teilen werden, da bei ihnen die Teilung in gewöhnlicher Lage die geringsten Schwierigkeiten macht; die ovaleren Formen werden sich bei der Teilung drehen und die langgestrecktesten werden mit der Einschnürung überhaupt erst beginnen können, wenn sie sich bereits quer zu ihrer ursprünglichen Achse eingestellt haben.

Diese dritte Gruppe verhält sich also nach meiner Annahme wie Haematococcus pluvialis bei der oben beschriebenen zweiten Teilung. Bei der der Chlamydomonas nahestehenden Polytoma ist ein solcher Vorgang von Dangeard (1901) beschrieben worden. Dieser Umstand hat bereits Oltmanns (1904) veranlaßt, die Querteilung bei Chlamydomonas für eine scheinbare zu halten. Er schreibt: „Die Querteilung farbiger Chlamydomonasarten muß man zweifellos im gleichen Sinne verstehen, wenn auch direkte Nachweise nicht vorhanden sind. Dafür spricht eine Angabe von Klebs, wonach bei Chlamydomonas media die pulsierenden Vakuolen vor der Teilung seitlich bemerkt werden, und ferner die Überlegung, daß die Chromatophoren doch symmetrisch geteilt zu werden pflegen."

Den Ursachen dieser Verschiedenheiten ist auch dieser Forscher nicht nachgegangen.

Da Dill von einer Anzahl der von ihm untersuchten Arten neben den Längenmaßen auch die Breitenmaße angegeben hat, so war es möglich, meine theoretische Voraussetzung an der Hand seiner Zahlenangaben zu prüfen. Auch bei Frank (1904) finde ich zahlreiche, für unsere Zwecke brauchbare Messungen an Chlamydomonas tingens. Von der Teilung dieser Art gibt er an: „Was die Teilungsrichtung anbetrifft, so vermochte ich bei dieser Chlamydomonasart stets nur Längsteilung festzustellen. Allerdings trifft man öfters auch Exemplare an, bei welchen die Teilungsachse senkrecht zur Längsrichtung der Mutterzelle zu liegen scheint. Solche Zustände sind aber

erst sekundär nach vollzogener Längsteilung durch nachträgliche Drehung der Tochterzellen um 90° entstanden.“ Wir dürfen wohl annehmen, daß die erwähnte Drehung schon vor Beendung der Zelldurchschnürung einsetzt und daß wir es also in diesen Einzelfällen mit demselben Vorgange wie bei Chlamydomonas longistigma und braunii zu tun haben. Da die Form der Chlamydomonas tingens augenscheinlich sehr mannigfaltig ist, gebe ich eine größere Anzahl der Zahlen Franks wieder. Alles in allem habe ich brauchbare Angaben von den auf nachfolgender Übersicht verzeichneten Arten gefunden:

Art der Teilung	Chlamydomonas	Breite	Länge	Verhältnis der Breite zur Länge	
				Durchschnitt	Höchstmaß
Längsteilung (nach Dill)	gigantea	24—28 μ	34—38 μ	1 : 1,39	1 : 1,36
	angulosa	gleicht Chlamydomonas longistigma, ist aber etwas kleiner (Dill)		—	—
Längsteilung, manchmal Längsteilung mit nachfolgender (? Verf.) Drehung (nach Frank)	tingens, in Knoops Nährlösung 0,2 %	—	—	$\frac{8,7}{14,1} = 1:1,62$	$\frac{13}{16,5} = 1:1,27$
	„ 1,0 „			$\frac{12,2}{15} = 1:1,23$	$\frac{15}{20} = 1:1,33$
	„ 2,0 „			$\frac{13}{15,3} = 1:1,18$	$\frac{16,5}{18,3} = 1:1,11$
	„ 2,5 „			$\frac{17,6}{18,1} = 1:1,03$	$\frac{21,6}{23,3} = 1:1,08$
Längsteilung angelegt, in Querteilung übergehend	longistigma	19—22 μ	25—35 „	1 : 1,46	1 : 1,59
	braunii	„ellipsoidisch, seltener kugelförmig“ (Goroschankin)		—	—
Querteilung	pisiformis	11—14 μ	18—24 μ	1 : 1,68	1 : 1,71
	parietaria	9—11 μ	16—18 μ	1 : 1,70	1 : 1,64
	grandis	zylindrisch (Dill)		—	—
	stellata	10—13 μ	18—20 μ	1 : 1,65	1 : 1,54
	pertyi	kugelförmig (Goroschankin)		—	—

Wenden wir unsere Aufmerksamkeit zunächst den vier Arten in obiger Tabelle zu, von denen nur allgemeine Angaben über die Körpergestalt vorliegen, so bestätigen Chlamydomonas braunii und grandis unsere Annahme vollständig, auch Chlamydomonas angulosa widerspricht ihr nicht; vielleicht würden genaue Messungen ergeben, daß ihre Gestalt doch noch etwas rundlicher ist, als die der longistigma. Nicht in Übereinstimmung mit der vorgetragenen Anschauung steht Chlamydomonas pertyi, die als kugelförmige Zelle sich durch Querteilung vermehren soll. Allein, diese Art kann nur durch ein Versehen Dills in seine dritte Rubrik geraten sein. Er selbst hat sie nicht untersucht, und Goroschankin, der sie beschreibt, läßt über die Art des Teilungsvorganges kein Wort verlauten. Man darf wohl erwarten, daß eine genaue Untersuchung bei dieser Art Längsteilung ergeben wird.

Bei den sechs übrigen Arten, von denen genaue Messungen vorliegen, habe ich, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, das Verhältnis der Breite zur Länge sowohl für die Durchschnittsgrößen, wie für die Höchstmaße berechnet. Beide Zahlenreihen zeigen ganz unzweideutig, daß die rundlichste Form sich längs teilt, die längere sich während

der Teilung dreht und die längsten die sogenannte Querteilung zeigen. Daß das Verhältnis der Höchstmaße bei Chlamydomonas stellata etwas niedriger ist, beruht wohl auf einer Ungenauigkeit in den Messungen; denn bei einer Vergleichung der Mindestmaße dieser Art kommen wir gar zu dem Verhältnis 1 : 1,80.

Die Beweiskraft der von mir berechneten Verhältniszahlen ist um so überzeugender, als sie aus den ganz unbefangenen Messungen anderer Beobachter gewonnen sind. Wie erheblich die Formenunterschiede der verschiedenen Arten sind, habe ich bereits in meiner vorläufigen Mitteilung an einem Beispiel gezeigt (vergl. dort Fig. 2). Die drei Ellipsen sind hergestellt nach den Verhältniszahlen der Höchstmaße von Chlamydomonas gigantea, longistigma und pisiformis; sie geben also annähernd die Körperform dieser drei Arten wieder.

Das Ergebnis dieser Betrachtung ist also kurz zusammengefaßt folgendes: Alle Chlamydomonasarten vermehren sich durch Längsteilung, bei den langgestreckteren Formen wird jedoch die Zelle durch ihre Hülle gezwungen, sich wähend oder schon vor der Teilung um einen rechten Winkel zu drehen, wodurch der Eindruck einer Querteilung vorgetäuscht wird.

Wenn wir auf Grund unseres Zahlenmaterials versuchen, diesen Zusammenhang durch genauere Zahlenangaben auszudrücken, so können wir etwa folgendes Schema aufstellen:

Formen mit dem Verhältnis 1 : 1 — 1 : 1,4 keine Drehung,
" " " " 1 : 1,4 — 1 : 1,6 Drehung während der Teilung,
" " " " über 1 : 1,6 Drehung vor der Teilung.

Die Erkenntnis der rein mechanischen Ursachen des Teilungsbildes läßt es einleuchtend erscheinen, daß bei derselben Art gelegentlich eine abweichende Form der Teilung auftritt, daß ein besonders rundliches oder besonders längliches Individuum in der Weise, wie es oben erörtert wurde, von seinen Artgenossen abweicht. Ein derartiges Beispiel bietet uns in der Tabelle Chlamydomonas tingens. Während entsprechend der gewöhnlich beobachteten Längsteilung die Verhältniszahlen im allgemeinen niedrig sind, zeigt das Verhältnis der Durchschnittszahlen in 0,2 % Knopscher Nährlösung eine auffallende Höhe; ein Beweis, daß gelegentlich stark abweichende, langgestreckte Formen vorkommen, die dann jedenfalls die von Frank beobachtete Drehung bei der Teilung ausführen. Umgekehrt findet man bei Haematococcus pluvialis Teilungsbilder, bei denen die Drehung der Zelle unterbleibt. Wollenweber (1908) bildet solche Figuren ab und hat aus ihnen als erster die Erkenntnis von der Längsteilung des Haematococcus geschöpft.

Jedenfalls verliert auf Grund obiger Klarlegungen die Teilungsform als systematisches Unterscheidungsmittel jeden Wert und der Einteilung der Gattung Chlamydomonas in drei Gruppen, die Dill unternommen hat, ist damit der Boden entzogen.

V. Schwärmer- und Palmellenbildung.

Die Tatsache, daß uns Haematococcus pluvialis in zwei verschiedenen Lebenszuständen, als beweglicher Flagellat und als unbewegliche, abgerundete Zelle entgegentritt, führt uns zu der Frage, von welchen Bedingungen das Auftreten der einen oder der anderen Form abhängig ist.

Die Ansicht ist unter den Forschern allgemein verbreitet, daß die Palmellen eine Zeit der Austrocknung überstehen müssen, damit aus ihnen wieder bewegliche Formen hervorgehen. Tatsächlich spricht auch der Umstand, daß man die Schwärmerbildung sogar durch Übergießen trockener Palmellen mit destilliertem Wasser hervorrufen kann, dafür, daß die bloße Befeuchtung nach vorheriger Austrocknung ohne jede Aufnahme von Nährstoffen den Übergang in die Flagellatenform bewirken kann. Anderseits haben mir meine Kulturen gezeigt, daß auch ohne Trockenlegung die Palmelle zur Schwärmerbildung veranlaßt werden kann, wenn ihr reichliche Mengen von Nährstoffen geboten werden. Das geht beispielsweise aus den Kulturen 28 und 31 (s. S. 11) hervor. In beiden Kulturen, die nur noch Palmellen enthielten, genügte der Zusatz frischen Nitrats und Phosphats, um erneutes Auftreten beweglicher Formen hervorzurufen. Der Einwand, daß es sich dabei um plötzliche Vermehrung vereinzelt noch vorhandener Schwärmer handelte, erledigt sich dadurch, daß ich unter dem Mikroskop die Bildung der Schwärmer in der Palmellenhülle beobachten konnte. Die in den beiden genannten Kulturen auftretenden Schwärmer verschwanden allerdings nach einigen Tagen wieder, da ihnen ja nur ein Teil der verbrauchten Nährstoffe neu geboten worden war. Bei einem anderen Kulturversuch jedoch, bei dem ich von einer Erbsenwasserkultur, die nur noch rote Palmellen enthielt, die Flüssigkeit abgoß und sofort durch Molischs Nährlösung ersetzte, konnte ich eine lebhafte Schwärmerentwicklung erzielen, die wochenlang anhielt.

Weisen nun diese Beobachtungen über die Bedingung der Schwärmerbildung darauf hin, daß umgekehrt die Palmellenbildung durch eine allgemeine Verarmung des Mediums an Nährstoffen verursacht wird, so ist doch keineswegs eine Nährlösung, in der die Schwärmer zur Palmellenbildung schreiten, völlig erschöpft. Dies beweist zunächst folgender Versuch:

Von einer 77 Tage alten Molischkultur, die nur noch Palmellen, diese aber nicht ganz rot, sondern mit kräftigem, grünem Hof, enthielt, wurde die Flüssigkeit durch ein Fließpapierfilter abgegossen und mit ihr drei Monate trockener, rote Palmellen enthaltender Schlamm angesetzt. In dieser Kultur traten nicht nur zahlreiche Schwärmer auf, was ja auch in der nährstoffärmsten Flüssigkeit einzutreten pflegt, sondern die Schwärmer vermehrten sich sehr lebhaft und verloren ihr Hämatochrom bis auf einen kleinen roten Kern im Zentrum. Erst nach 10 Tagen begannen die Flagellaten wieder in Palmellen überzugehen.

Das Vorhandensein von Nährstoffen in Kulturen, die nur noch Palmellen enthalten, zeigt sich ferner darin, daß mit der Palmellenbildung die Entwicklung keineswegs beendet ist. Die Palmellen wachsen, wie bekannt, heran und zerfallen, wenn sie eine erhebliche Größe erreicht haben, durch schnell aufeinander folgende Teilungen in eine große Zahl, meist sechzehn, kleine Palmellen. Solche Bilder findet man in Kulturen naturgemäß nur kurze Zeit, zu Beginn der Palmellenbildung, da die vorhandenen Nährstoffe mangels jeder Zufuhr sich schnell weiter vermindern, so daß die Lebenstätigkeit der Palmellen bald auf ein Mindestmaß beschränkt wird. Dagegen findet man die Teilung der Palmellen sehr häufig in der Natur, was auch Hazen (1899) beobachtet hat. Diese Erscheinung ist leicht erklärlich; denn wenn die Nähr-

stoffe in einem Tümpel soweit aufgebraucht sind, daß Haematococcus in den Palmellazustand übergegangen ist, findet durch hineingewehten Staub, durch hineingefallene Insektenleichen und Pflanzenreste noch immer neue Nahrungszufuhr statt, die, wenn auch nicht ausreichend, erneute Schwärmerbildung zu veranlassen, doch eine reiche Palmellenvermehrung ermöglicht.

Bereits Cohn nimmt an, daß die Palmellenteilung durch niedrige Temperatur begünstigt wird, und Hazen stimmt ihm hierin bei. Diese Annahme steht mit unserer Erklärung im Einklang; denn Kälte wirkt an sich wie Nahrungsmangel auf die Zelle ein, insofern sie die Lebensvorgänge verlangsamt.

In diesem Zusammenhange sei auf eine andere, für gewöhnlich durch Kälte bewirkte, in unserem Falle auf den Nahrungsmangel zurückführbare Erscheinung hingewiesen, nämlich auf die auffallende Größe der Zelle. Während ich niemals Schwärmer gesehen habe, deren Zelleib mehr als 30 μ im Längsdurchmesser betrug, fand ich in dem aus den Teichen entnommenen Materiale Palmellen von 60—70 μ Durchmesser in großer Zahl. Die Hauptmasse war mit 40—50 μ bedeutend größer als die größten Schwärmer.

Die größten Palmellen pflegten, wenn ich sie aus dem Schlamm heraussuchte und im hängenden Tropfen isolierte, am nächsten Tage in 16 kleine Palmellen zerfallen zu sein. In zwei Fällen trat dies jedoch nicht ein, da die Palmellen jedenfalls noch nicht unmittelbar vor der Teilung standen, als ich sie isolierte. Sie wuchsen langsam und stetig weiter und waren unter den äußerst ungünstigen Bedingungen im hängenden Tropfen unfähig, sich zu teilen. So wuchs eine Palmelle vom 13. Juli bis zum 28. August von einem Durchmesser von 68 μ bis zu einem solchen von 120 μ heran. Einige Tage darauf war sie geplatzt und ausgelaufen. Eine andere Palmelle versuchte ich, als sie von 64 μ auf 110 μ Durchmesser herangewachsen war, durch Übertragung in einen Tropfen von Molischs Nährlösung zur Teilung zu bewegen; sie wuchs noch bis auf 115 μ weiter und starb dann gleichfalls ab.

Die Angabe Wollenwebers, daß er bei Haematococcus droebakensis durch Züchtung in einer Aufschwemmung von Kuhmist Formen von 70 μ Größe erzielt habe, veranlaßte mich zu einer Vergleichung der Schwärmergrößen in meinen verschiedenen Kulturen. Ich konnte keine erheblichen Größenunterschiede entdecken. Auch in den früher (S. 26) erwähnten Parallelkulturen in Erbsenwasser von drei verschiedenen Stärken waren die Schwärmer gleich groß.

VI. Gametenbildung.

Über die geschlechtlichen Vorgänge bei Haematococcus habe ich ebensowenig wie alle früheren Beobachter Klarheit gewinnen können. Schon den älteren Untersuchern waren kleine, von den gewöhnlichen Schwärmern stark abweichende Formen aufgefallen, die zu 16 oder 32 durch schnell aufeinander folgende Teilungen entstehen. Nach Braun (1851) treten sie in den letzten Generationen der Schwärmerbildung auf. Nach Hazen (1899) entstehen sie stets aus Palmellen und zwar mit Vorliebe aus solchen, die getrocknet und ungünstigen Lebensbedingungen unterworfen worden waren. Licht soll ihr Auftreten begünstigen.

Keiner der Forscher, die sich mit der Untersuchung des Haematococcus pluvialis befaßt haben, hat eine Kopulation dieser „Mikrogonidien“ beobachten können. Dies ist um so auffallender, als dies bei allen Chlamydomonasarten leicht gelingt und auch Blochmann (1886) bei H. bütschlii, sowie Wollenweber (1908) bei H. droebakensis Kopulation gesehen haben. Der letztgenannte Forscher bezweifelt deshalb überhaupt die Gametennatur dieser Zellen. Ich glaube jedoch, daß die Analogie der verwandten Arten, sowie der sehr abweichende Bau der „Mikrogonidien“ uns zwingt, sie als Gameten anzusehen.

Um mich über die geschlechtlichen Vorgänge Klarheit gewinnen zu lassen, reichte die Anzahl der in meinen Kulturen auftretenden Gameten nicht aus. Versuche durch plötzliche Nahrungsentziehung und Temperaturwechsel Gametenbildung epidemisch zu erzeugen, was beispielsweise bei Infusorien (vergl. Hertwig [1903] Prandtl [1906] Popoff [1908 b]) leicht gelingt und was auch Klebs bei Chlamydomonas erreichte, führten zu keinem Ergebnisse. Es gebrach mir leider an Zeit, die Versuche noch weiter fortzusetzen. Ich muß mich daher darauf beschränken noch einige Beiträge zur Morphologie der Gameten zu liefern.

Bezüglich des Aussehens der lebenden Zellen verweise ich auf die Abbildungen der beiden jüngsten Arbeiten (Hazen Fig. 20, 21, 26, 27, 28; Wollenweber Taf. XV, Fig. 3, 4). Ihre Form ist, wie bekannt, rundlich, oval, zylindrisch oder sehr häufig hinten zugespitzt (vergl. meine Figuren 37 u. 38). Sie enthalten stets Chlorophyll, während der Hämotochromgehalt nach den Kulturbedingungen verschieden ist. Ein Pyrenoid habe ich niemals wahrgenommen. Für gewöhnlich scheinen die Gameten nackt zu sein, in einem Falle habe ich jedoch an einer mit Osmiumsäuredämpfen abgetöteten Zelle eine deutliche, sehr wenig abstehende Hülle bemerkt (Fig. 15). Das Vorhandensein oder Fehlen einer Hülle scheint ohne Bedeutung zu sein; in der Gattung Chlamydomonas sind nach den Angaben der Untersucher bei manchen Arten die Gameten nackt, bei manchen mit Hüllen versehen. Vielleicht ist die Hülle immer vorhanden und bei den scheinbar nackten Formen so dicht anliegend, daß sie nicht bemerkbar ist.

Der Zellkern liegt immer unmittelbar am vorderen Ende. Einen Nukleolus, dessen Vorhandensein Wollenweber angibt, habe ich weder an der lebenden noch an der gefärbten Zelle beobachten können. In letzterer stellt sich der Kern als ein Netz- (oder Waben-)werk dar, dem große Chromatinbrocken eingelagert sind. Schließlich findet man im gefärbten Präparate stets Volutinkörner in der Zelle.

Damit ist das Wenige erschöpft, das ich zur Gametenfrage bei Haematococcus beitragen kann.

Literaturverzeichnis.

Amato, A. (1908), Über die feine Struktur der Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 48.

Blochmann, F. (1886), Über eine neue Haematococcusart. Verh. d. naturh.-med. Vereins, Heidelberg, Bd. III.

Derselbe (1894), Kleine Mitteilungen über Protozoen. Biol. Zentralbl.

Derselbe (1895), Die mikroskopische Tierwelt des Süßwassers. Hamburg (Gräfe u. Sillem).

Braun (1851), Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. Leipzig.

Bütschli, O. (1890), Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Verh. d. naturh.-med. Ver. Heidelberg.

Czapek, F. (1905), Biochemie der Pflanzen I. Jena.

Cohn, F. (1850), Nachträge zur Naturgeschichte des Protococcus pluvialis. Nov. Act. Acad. Leopold. Carol. Bd. 22.

Derselbe (1867), Beiträge zur Physiologie der Phycochromaceen und Florideen. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 3.

Dangeand, P.-A. (1898), Mémoire sur les Chlamydomonadinées. Le Botaniste. Bd. 6.

Derselbe (1901), Étude sur la structure de la cellule et ses fonctions. Le Polytoma uvella. Le Botaniste. Bd. 8.

Dill, O. (1895), Die Gattung Chlamydomonas und ihre nächsten Verwandten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 28.

Ehrenberg, Ch. (1838), Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen.

Engelmann, Th. W. (1882), Über die Assimilation von Haematococcus. Bot. Zeit. 40.

Derselbe (1902), Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. Suppl.

Flotow, J. v. (1844), Über Haematococcus pluvialis. Nov. Act. Acad. Leopold. Carol. Bd. 20.

Frank, Th. (1904), Kultur und chemische Reizerscheinungen der Ch. tingens. Bot. Zeit. 62.

Gaidukow (1902), Über den Einfluß farbigen Lichts auf die Färbung der Oscillarien. Abh. d. Preuß. Akad. d. Wiss.

Goroschankin (1890, 91), Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Systematik der Chlamydomonaden I u. II. Bull. de la soc. Imp. des Naturalistes de Moscou 4 u. 5.

Grimme, A. (1902), Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 32.

Guilliermond, A. (1903), Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons. Ann. mycolog. Bd. I.

Derselbe (1906), Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. Revue générale de Botanique. Bd. 18.

Hamburger, C. (1905), Zur Kenntnis der Dunaliella salina und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

Hartmann, M. (1904), Die Fortpflanzungsweisen der Organismen usw. Biol. Zentralbl. Bd. 24.

Hazen, E. (1899), The Life History of Sphaerella lacustris (H. pluvialis). Memoirs of Torrey Bot. Club Vol. VI. New-York.

Hertwig, R. (1902), Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. I.

Derselbe (1903), Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. München (Lehmann).

Derselbe (1904), Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. Festschr. f. Haeckel. Jena (G. Fischer).

Derselbe (1908), Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

Klausener, C. (1908), Die Blutseen der Hochalpen. Internat. Revue d. ges. Hydrobiologie und Hydrographie. Bd. I, 1908.

Klebs, G. (1883), Über die Organisation einiger Flagellatengruppen. Unters. d. Tüb. Inst. I.

Krukenberg, Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Farbstoffe und Farben. Vergl. physiol. Vorträge. Bd. I.

Kunze, W. (1907), Über Orcheobius herpobdellae. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.

Kutscher, F. (1898), Beitrag zur Kenntnis der Euglena sanguinea. Zeitschr. f. Physiol. Chemie. Bd. 24.

Lauterborn, R. (1896), Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig, W. Engelmann.

Maupas, E. (1888), Sur la multiplication des Infusoires ciliés. Arch. Zool. expér. et gén. Bd. VI, Ser. II.

Merton (1908). Über den Bau und die Fortpflanzung von Pleodorina illinoisensis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 90.

Meyer, A. [Kritik d. Arb. Schaudinns (1902)]. Bot. Zeit. 1903, Nr. 1.

Derselbe (1904), Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Zeit.

Oltmanns (1904), Morphologie und Biologie der Algen.

Perthy, M. (1852), Zur Kenntnis kleinster Lebensformen. Bern.

Popoff, M. (1908a), Experimentelle Zellstudien. Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

Derselbe (1908b), Die Gametenbildung und die Konjugation von Carchesium polypinum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 89.

Prandtl, H. (1906), Die Konjugation von Didinium nasutum. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

Prowazek, S. (1903), Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 2.

Derselbe (1908), Das Lecithin und seine biologische Bedeutung. Biol. Zentralbl. Bd. 28.

Reichenow, E. (1909), Untersuchungen an Haematococcus pluvialis und einigen anderen Flagellaten. Sitzungsber. d. Ges. Naturf. Freunde.

Röhmann, F. (1908), Lehrbuch der Biochemie.

Rostafinski, J. (1881), Über den roten Farbstoff einiger Chlorophyceen. Bot. Zeit. Bd. 39.

Sassi, M. (1907), Einiges über Flagellaten. Mitteil. d. Naturw. Vereins a. d. Univ. Wien. Jahrg. V.

Schaudinn, F. (1900), Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 13.

Derselbe (1902, 1903), Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. Bacillus bütschlii. II. Bacillus sporonema. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 u. 2.

Schaumann, H. (1908), Beriberi und Nukleinphosphorsäure in der Nahrung. Beih. 5 zum Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12.

Schubotz, H. (1905), Beiträge zur Kenntnis der Amoeba blattae und Amoeba proteus. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

Wille, N. (1903), Algologische Notizen. Nyt. Magazin for Naturvidenskab. Bd. 41.

Wollenweber, W. (1907), Das Stigma von Haematococcus. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 25.

Derselbe (1908), Untersuchungen über die Algengattung Haematococcus. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 26.

Zopf, W. (1891), Über Ausscheidung von Fettfarbstoffen (Lipochromen) seitens gewisser Spaltpilze. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 9.

Derselbe (1892), Zur Kenntnis der Färbungsursachen niederer Organismen. Beitr. z. Physiol. u. Morphol. niederer Organismen. Leipzig (Arthur Felix) 1. Heft.

Derselbe (1895), Cohns Hämatochrom, ein Sammelbegriff. Biol. Zentralbl. Bd. 15.

Zumstein, H. (1900), Zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 34.

Erklärung der Abbildungen.

c = Karotin, cv = kontraktile Vakuole, h = Hämatochrom, N = Kern, n = Nukleolus, pa = Paramylum, py = Pyrenoid, s = Stigma, v = Volutin.

Tafel I.

Fig. 1—6. Haematococcus pluvialis in Molischs Nährlösung.
Fig. 1. Nach 24 stündiger Kultur.
Fig. 2. Nach 2 Tagen.
Fig. 3. Nach 3 Tagen.
Fig. 4. Nach 4 Tagen.
Fig. 5. Nach 6 Tagen.
Fig. 6. Nach mehreren Wochen.
Fig. 7—9. Euglena sanguinea.
Fig. 7. Ausgangsform im natürlichen Medium.
Fig. 8. Chlorophyllfreie Form.
Fig. 9. Nach vierwöchiger Kultur in Erbsenwasser.
Fig. 10—12. Euglena gracilis.
Fig. 10. In Zumsteins Nährlösung. Homog. Ölimmers. 2 mm, Komp. Ok. 6.
Fig. 11. In stickstoffreier Nährlösung. Homog. Ölimmers. 2 mm, Komp. Ok. 12.

Fig. 12. Zwischenform, auftretend beim Zurückführen der Euglene aus der stickstofffreien in die stickstoffhaltige Lösung.

Fig. 13. Palmelle des Haematococcus bei einseitiger schwacher Belichtung (von oben auf der Tafel).

Fig. 14. Beginn der Teilung bei Haematococcus. Länge des Zellkörpers 24 μ, Breite 25 μ.

Fig. 15. Mit Hülle versehener Gamet von Haematococcus. Länge 12 μ, Breite 6 μ, Länge der Geißeln 17 μ.

Fig. 16. Abgekugelte grüne Form von Euglena sanguinea, Protoplasmastruktur und veränderte Verteilung des Chlorophylls zeigend.

Tafel II.

Sämtliche Figuren wurden mit dem Abbéschen Zeichenapparat bei homog. Ölimmers. 2 mm, Komp. Ok. 12, Fig. 36 Komp. Ok. 18 gezeichnet. Alle Abbildungen beziehen sich auf Haematococcus.

Fig. 17. Schwärmer in Molischs Nährlösung.

Fig 18—28. Teilungsbilder.

Fig. 18 u. 19. Vorbereitung zur Teilung; der Kern wird chromatinreich.

Fig. 20. Bildung der Chromosomen.

Fig. 21. Mitose.

Fig. 22. Bildung der Tochterkerne.

Fig. 23. Beendete Zweiteilung.

Fig. 24. Ausbildung des einen Tochterkerns noch nicht ganz beendet; noch zwei Nukleolen vorhanden.

Fig. 25—28. Zweite Teilung.

Fig. 29. Schwärmer aus einer Erbsenwasserkultur.

Fig. 30—33. Abweichende Form der Teilung; die Kernteilung eilt der Teilung des Protoplasmaleibes voraus. Fig. 31 aus Molischs Nährlösung, die anderen aus Erbsenwasser.

Fig. 35. Zweikernige Zelle mit zwei Geißelpaaren.

Fig. 36. Chromatinreicher Kern mit vakuolisiertem Nukleolus (Vorbereitung zur Teilung).

Fig. 37. Gamet; Länge 8 μ, Breite 3 μ.

Fig. 38. Gamet; Länge 9 μ, Breite 3 μ.

Studien über die Trypanosomiasis der Ratten mit Berücksichtigung der Übertragung unter natürlichen Verhältnissen und der Immunität.

Von

Dr. Manteufel,

wissenschaftl. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Wenn auch das Hauptinteresse der medizinischen Forschung die sog. pathogenen Trypanosomen in Anspruch nehmen, so hat anderseits das Studium ihrer wirtschaftlich unwichtigen Verwandten, der Trypanosomen der Ratten, Vögel, Fische und Frösche sowie der im Darm von Fliegen parasitierenden Herpetomonaden auch hier bereits seine wissenschaftliche Berechtigung zur Genüge erwiesen und das Verständnis für die Trypanosomenkrankheiten der Praxis fördern geholfen.

Was speziell die Trypanosomen der Ratten (Trypanosoma lewisi Kent) anlangt, so haben hauptsächlich die Arbeiten von L. Rabinowitsch und W. Kempner (1), Laveran und Mesnil (2), v. Wasielewski und Senn (3), Francis (4), Jürgens (5), v. Prowazek (6) und in letzter Zeit von Moore, Breinl und Hindle (7) unser Wissen darüber in den Grundzügen festgelegt. Einige Lücken darin auszufüllen und neue Gesichtspunkte, die zur Trypanosomenforschung in Beziehung stehen, zu erörtern, ist der Zweck der vorliegenden Zeilen.

Übertragung von Trypanosomeninfektionen durch Kontakt.

Ein strittiger Punkt in der Trypanosomenforschung ist bisher die Frage geblieben, ob diese Lebewesen die mechanisch unverletzte Schleimhaut durchwandern und auf diesem Wege in die Blutbahn eindringen können. Bei Versuchen mit Rattentrypanosomen ist Rabinowitsch und Kempner (1) eine Infektion durch Fütterung mit dem Kadaver einer gefallenen infizierten Ratte nicht gelungen, ebensowenig haben Laveran und Mesnil bei der Fütterung mit trypanosomenhaltigem Blut (2) eine Blutinfektion auftreten sehen. Dagegen haben Francis (4) und neuerdings Yakimoff und Schiller (8) durch Verfütterung parasitenhaltiger frischer Organe in fast allen Fällen Blutinfektionen mit Trypanosoma lewisi erzielt. Während Rabinowitsch und Kempner auch bei intrastomachaler Einverleibung negative Ergebnisse gehabt haben, ist Francis bei Verwendung von chloroformierten Ratten und geölten Sonden, um Verletzungen der Schleimhaut beim Füttern zu vermeiden, die Übertragung der Infektion auf diesem Wege gelungen. Laveran und Mesnil sind der Ansicht, daß die Über-

tragung durch die Schleimhaut auch bei pathogenen Trypanosomen nur dann möglich sei, wenn irgend welche Verletzungen der Schleimhaut vorhanden sind.

Uhlenhuth, Hübener und Woithe (9), die sich bei ihren Untersuchungen über Dourine ebenfalls mit der Frage beschäftigt haben, sprechen sich folgendermaßen aus: „Vorbedingung für die experimentelle Infektion scheint uns in der Regel eine Zusammenhangstrennung der Gewebe mit Eröffnung der Lymph- und Blutbahnen zu sein. Es ist uns zuerst lange nicht gelungen, Tieren Dourinetrypanosomen durch die unverletzte Schleimhaut oder Haut hindurch einzuverleiben, obgleich wir es auf die verschiedenste Art und Weise versucht haben. Das infektiöse Material wurde in die unverletzte Haut eingerieben, mit Gummisonde per os, per anum, in die Konjunktivalsäcke eingebracht, wir fütterten mit verschiedenen stark dourinehaltigen Substanzen, meist mit negativem Erfolg. In den wenigen Fällen, wo Infektion erfolgte, konnten wir uns nicht entschließen, die Versuche als sicher einwandsfrei anzusehen, die Annahme einer Verletzung absolut abzulehnen. Später, als unser Trypanosomenstamm für kleine Tiere virulenter geworden war, gelang uns in einigen Fällen die Infektion bei unverletzter Haut bezw. Schleimhaut". (Die perkutane Impfung erfolgte auch hier durch Einreiben von Dourineblut in die geschorene Haut mittels Gummifingers.) „Bei der Verfütterung infektiösen Materials erhielten wir folgende Ergebnisse: Beim gewaltsamen Einführen von Dourineorganen in das Maul der zahmen Versuchsratten erfolgte in sechs Fällen einmal eine Infektion. Warfen wir hungrigen Ratten (weiche) parenchymatöse, trypanosomenhaltige Organe vor, so konnten wir, trotzdem die letzteren stets angenommen wurden, nie eine Erkrankung danach beobachten, das gleiche negative Ergebnis erzielten wir nach dem Vorwerfen ganzer Kadaver. Dagegen erfolgte bei 19 wilden Ratten, denen lebende Dourine-Mäuse oder kleine infizierte bunte Ratten überlassen wurden, sechsmal die beabsichtigte Infektion. Wir vermögen diese Versuche jedoch nicht für absolut einwandsfrei anzusehen, da Verletzungen der Maulschleimhaut usw., besonders beim Zerbeißen der Knochen, nicht ausgeschlossen sind."

Wenn man danach eine Übertragung von Trypanosomenkrankheiten per os für möglich halten muß, so läßt doch der verschiedenartige Ausfall der Laboratoriumsversuche eine eindeutige Beantwortung der Frage, ob die mechanisch unverletzte Schleimhaut einen Durchtritt von Trypanosomen verhindert, nicht zu. Meine eigenen Versuche mit Rattentrypanosomen haben in dieser Richtung folgendes Ergebnis gehabt.

Die Verfütterung von parenchymatösen Organen frisch entbluteter, mit Rattentrypanosomen infizierter Tiere hatte in sehr zahlreichen Versuchen, übereinstimmend mit den Angaben von Rabinowitsch und Kempner, sowie Laveran und Mesnil immer ein negatives Ergebnis. Auch nach Einträufelung von trypanosomenhaltigem Blut in die Augenbindehäute von Ratten sind Blutinfektionen von mir niemals beobachtet worden. Die große Anzahl dieser Versuche beweist, daß es sich hier nicht um ein Spiel des Zufalls handelt, zumal der Trypanosomenstamm, mit dem diese Versuche ausgeführt wurden, ein sehr virulenter war: Bruchteile einer Öse infizierten Blutes genügten auch bei subkutaner Applikation, um bei zahmen Ratten mit Sicherheit eine Infektion zu erzielen.

Um so unerklärlicher erschien bei dieser Sachlage die weiterhin einwandfrei festgestellte Tatsache, daß die Rattentrypanosomen durch die mechanisch unverletzte Oberhaut des Körpers in die Blutbahn einzuwandern vermögen. Die betreffenden Versuche wurden in der gleichen Weise angestellt, wie ich es bei den Versuchen mit Rekurrensspirochaeten beschrieben habe (11). Versuche, deren Ergebnisse inzwischen von Bohne (12) bestätigt worden sind.

Das trypanosomenhaltige Blut wurde bei aufgespannten Ratten, die weder rasiert noch durch Abscheeren der Haare irgendwie vorbereitet waren, in der Ausdehnung von etwa Zweimarkstückgröße auf die Bauchfläche aufgeträufelt (nicht eingerieben), und die Haut mit Hilfe eines Wattebausches mit dem Blute möglichst durchfeuchtet. Darauf wurde gewartet, bis das Blut vollständig eingetrocknet war ($1^1/_2$ bis 2 Stunden) und die ganze mit Blut bedeckte Partie mit Kollodium überzogen. Die Ratten wurden dann losgemacht und jede in einem besonderen Behältnis für die mikroskopische Untersuchung untergebracht. Nach fünf bis sechs Tagen war in der Mehrzahl der Versuche eine beginnende Blutinfektion festzustellen, die späterhin einen ganz normalen Verlauf nahm. Die Infektion durch die rasierte Haut ist bei dieser Versuchsanordnung in allen Fällen gelungen.

Auch diese perkutanen Übertragungsversuche sind so häufig wiederholt worden, daß eine Täuschung durch Zufälle ausgeschlossen werden kann. Man muß vielmehr daraus den Schluß ziehen, daß ein unverletzter Epithelüberzug selbst in der Stärke, wie er bei der Oberhaut vorhanden ist, an und für sich für die Trypanosomen keine Hindernisse darstellt. Wenn also die Verfütterung von trypanosomenhaltigem Material und die Einträufelung von trypanosomenhaltigem Blut in die Augenbindehaut mit Rattentrypanosomen hier nicht gelingt, während andere Forscher dabei positive Ergebnisse gehabt haben, so kann das wohl nicht durch die Unversehrtheit bezw. durch Verletzungen der Schleimhaut erklärt werden, sondern es ist anzunehmen, daß irgend welche anderen Verhältnisse dabei mitspielen. Als beweiskräftig für eine Infektionsmöglichkeit per os kann man allerdings nur das freiwillige Verzehren weicher, trypanosomenhaltiger Organe bezeichnen, denn sowohl die Fütterung mit ganzen (knochenhaltigen) Kadavern wie die künstliche Einverleibung des Infektionsmaterials per os lassen die Wahrscheinlichkeit einer Verletzung der Schleimhaut niemals mit Sicherheit ausschließen. Bezeichnenderweise ist auch mir die Infektion per os anstandslos gelungen, wenn den Versuchsratten infiziertes Blut in die künstlich geöffnete Mundhöhle eingespritzt wurde. Wenn aber bei mit Wahrscheinlichkeit mechanisch unverletzter Schleimhaut die Infektion nicht gelingt, so könnte das m. E. an bestimmten Abwehrkräften des Organismus liegen, die in den Schleimhautsekreten vorhanden sind. Während diese auf Rekurrens- und Hühnerspirochaeten nicht energisch genug wirken, um die Infektion per os und per conjunctivam zu verhindern, erweisen sich die Trypanosomen anscheinend nur in Ausnahmefällen als genügend widerstandsfähig dagegen.

Man könnte daran denken, daß bei der Wanderung durch die Haut irgendwelche besonders kleinen (filtrierbaren) Entwickelungsformen der Trypanosomen tätig sind. Indes weiß man durch die Übertragungsversuche mit Filarienlarven, daß auch

die Größe der normalen Trypanosomen einem Eindringen in die Epidermis kein Hindernis bieten kann. Anderseits haben Bruce und Batemann (13) die zuerst von Novy und Mc Neal (14) sowie von Moore und Breinl (15) angeschnittene Frage, ob im Entwickelungskreis der Trypanosomen Formen vorkommen, die so klein sind, daß sie durch Berkefeld-Filter hindurchgehen, auf Grund von Versuchen negativ beantwortet.

Die Tatsache, daß die unverletzte Haut oder Schleimhaut an und für sich für den Durchtritt der Trypanosomen kein Hindernis darbietet, erfordert meiner Ansicht nach eine andere als die bisher übliche Fragestellung, um zu einem Verständnis der in der Praxis vorkommenden Kontaktinfektionen bei den Trypanosomenkrankheiten zu gelangen. Bekanntlich hat man jetzt, nachdem bereits bei der Dourine die Übertragung durch den Geschlechtsverkehr als der praktisch wichtigste Modus der Verbreitung festgestellt war, auch bei der Schlafkrankheit ähnliche Beobachtungen gemacht (10). Nun unterscheiden sich die beiden letzterwähnten Trypanosomen in der hier in Betracht kommenden Beziehung sehr auffällig dadurch, daß bei der Dourine lokale Erscheinungen am Genitalapparat auftreten, was bei der Schlafkrankheit bisher nicht beobachtet worden ist. Indes auch im Falle der erwähnten lokalen Affektionen bei Dourine handelt es sich nach Schneider und Buffard (16) nicht um eine Veränderung durch Trypanosomen, die aus dem Blutgefäßsystem in das Schleimhautgewebe ausgewandert sind, sondern die Plaques und Ödeme sind Erscheinungen von Embolie, die durch Anhäufung von Parasiten in den Schleimhautarterien hervorgerufen wird. Von anderen Autoren sind allerdings die Dourinetrypanosomen auch in den Sekreten der Vaginal- und Harnröhrenschleimhaut gefunden worden (u. a. auch Uhlenhuth, Hübener und Woithe), so daß also zurzeit mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß die Dourinetrypanosomen ohne mechanische Verletzung des Blutgefäßsystems an die Schleimhautoberfläche treten können.

Die erste Vorbedingung für das Zustandekommen einer Kontaktübertragung bei den hauptsächlich als Blutinfektion auftretenden Trypanosomen (Trypanosomiasis der Ratten, Schlafkrankheit der Menschen) ist mithin die, daß die Trypanosomen frei an die Oberfläche und mit der Schleimhaut des gesunden Individuums in Verbindung treten können. Das ist bei der Begattung auf zwei verschiedenen Wegen möglich. Erstens ist es denkbar, daß die Trypanosomen aus dem Blut in das Sekret der akzessorischen Geschlechtsdrüsen übergehen und damit an die Oberfläche gelangen. Ob das wirklich der Fall ist, muß noch genauer untersucht werden. Die zweite Möglichkeit ist dann gegeben, wenn bei der Kohabitation eine die Blutbahn eröffnende Schleimhautverletzung des infizierten Individuums entsteht, so daß die Trypanosomen auf diese Weise mit der Schleimhaut des gesunden Partners in Berührung kommen. In diesem Falle ist also, wohl verstanden, nicht sowohl eine Schleimhautverletzung bei dem gesunden Individuum notwendig, wie man von vornherein anzunehmen geneigt ist, als vielmehr des kranken. Ohne Frage ist schon aus diesem Grunde die Chance für eine Übertragung von im Blut kreisenden Trypanosomen (Schlafkrankheit beim Menschen) durch Kohabitation bedeutend geringer als bei der Syphilis (und ev. Dourine), wo sich das Virus im infektiösen Stadium der Krankheit

normalerweise auf der Schleimhautoberfläche aufhält. Dazu kommt, daß, nach dem Ausfall der obigen negativen Übertragungsversuche von Rattentrypanosomen durch die Schleimhaut, gewisse sekundäre Umstände, z. B. etwa die Sekrete der Schleimhaut, einen nicht zu unterschätzenden Einfluß auf den Erfolg einer Infektionsmöglichkeit besitzen dürften, was anscheinend bei Spirochaeten (Versuche mit Hühnerspirochaeten von Uhlenhuth und Groß und mit Rekurrensspirochaeten, die von mir angestellt wurden) auch nicht in solchem Grade der Fall ist. In der Tat sind die Versuche, die Trypanosomiasis der Ratten durch Kohabitation zu übertragen, bisher sämtlich negativ ausgefallen, denn weder Jürgens noch ich selbst konnten dabei positive Resultate erzielen. Dagegen hat neuerdings Möllers (41) bei Versuchen mit Nagana an Mäusen, obgleich die Krankheit bei diesen Tieren anscheinend ebenfalls nur als Blutinfektion auftritt, positive Ergebnisse veröffentlicht. Für die experimentelle Klärung der Frage der Schlafkrankheitsübertragung durch Coitus, die sich bisher nur auf epidemiologische Beobachtungen am Menschen stützte (Kudicke 10), sind die Versuche von größter Bedeutung, wenn auch Möllers selbst infolge des geringen Prozentsatzes der Übertragungen (5 %) die Infektion durch den Zeugungsakt als Ausnahme gegenüber der üblichen Übertragungsweise durch Zwischenwirte bezeichnet. Die Unstimmigkeit zwischen den negativen Versuchen bei Rattentrypanosomen und den positiven bei Naganamäusen bedarf bei dieser Sachlage noch weiterer Untersuchungen; vielleicht würden bei größeren Versuchsreihen, als sie bisher vorliegen, auch im ersteren Falle einige positive Ergebnisse zu erzielen sein.

Auch mit Dourinetrypanosomen, wo ja anscheinend die Möglichkeit der Übertragung durch Geschlechtsverkehr günstiger und experimentell erwiesen ist, haben Uhlenhuth, Hübener und Woithe bei Kaninchen, Ratten und Mäusen nur negative Ergebnisse gehabt.

Jedenfalls ist ein Verständnis für die Bedeutung der Kontaktübertragung der Trypanosomenkrankheiten nur dann möglich, wenn der Mechanismus dieser Übertragung durch emperimentelle Untersuchungen bis ins einzelne klargestellt wird.

Die Bedeutung der rosettenartigen Trypanosomenformen.

Im Verlaufe der Infektion beobachtet man im Blut der mit Trypanosoma lewisi infizierten Ratten gelegentlich mehr oder weniger große Häufchen beweglicher konzentrisch angeordneter Parasiten, die im mikroskopischen Präparat wie Sterne oder Rosetten aussehen. Man hat dabei zwei verschiedene Arten unterscheiden gelernt, deren verschiedenes Aussehen hauptsächlich darauf beruht, daß in dem einen Falle die Geißeln der Trypanosomen nach dem Zentrum des Häufchens, im anderen nach der Peripherie gerichtet sind. Die Erfahrung hat auch gelehrt, daß solche Häufchen durch zwei verschiedene Ursachen zustande kommen können: Erstens können sie das Resultat einer multiplen Teilung und zweitens der Ausdruck einer Verklebung vorher frei beweglicher Einzelindividuen sein, für die man jetzt ziemlich allgemein den Ausdruck Agglomeration gebraucht. Meinungsverschiedenheiten bestehen aber zurzeit unter den Autoren noch darüber, welche Formen man als Agglomerations- und welche als Teilungsrosetten anzusehen hat. So sahen Francis, Laveran und Mesnil sowie Jürgens

bei Agglomerationsformen die Geißeln stets nach der Peripherie gerichtet, während v. Prowazek angibt, daß die Knäuelbildung immer mit dem blepharoplastführenden Ende der Trypanosomen zuerst erfolgt und davon soweit abhängig ist, daß solche Trypanosomen, bei denen der Blepharoplast und die Geißel — vom Kern aus gerechnet — auf der gleichen Seite liegen (gewisse Kulturformen und Jugendstadien), Rosetten mit zentralwärts gerichteten Geißeln bilden, und diejenigen Trypanosomen, bei denen Blepharoplast und Geißel auf entgegengesetzten Seiten des Kerns gelegen sind (die gewöhnlichen Formen des kreisenden Blutes), bei der Knäuelbildung peripheriewärts gerichtete Geißeln zeigen. Diese Ansicht wird auch von Lühe in Menses Handbuch der Tropenkrankheiten vertreten. In der neuesten Auflage des Lehrbuches von Kolle-Hetsch findet sich sogar die Angabe, daß bei den rosettenartigen Agglomerationsfiguren der Regel nach die Geißeln im Zentrum und die Leiber nach der Peripherie zu liegen.

Eigene Beobachtungen in dieser Richtung haben mich gelehrt, daß in allen den Fällen, in denen man den Prozeß der Knäuelbildung im lebenden Präparat willkürlich erzeugen und beobachten kann (Zusatz von fremdartigem Serum, von homologem Immunserum, von Formalin usw.), immer eine Verklebung mit dem geißellosen Ende zustande kommt, so daß also in den Rosetten die Geißeln nach der Peripherie gerichtet sind. Dabei ist es ganz ohne Bedeutung, wo der Blepharoplast im Verhältnis zum Kern liegt. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man die Rattentrypanosomen aus der Blutagarkultur mit Serum einer gegen Trypanosoma lewisi immunisierten Ratte zusammenbringt. Sieht man dabei von den Häufchen ab, die sich von vornherein in jeder solchen Kultur vorfinden — es wird später noch davon die Rede sein — und achtet nur auf die Knäuel, die man unter der Einwirkung des Serums zustande kommen sieht, so kann man feststellen, daß auch die jungen Herpetomonas-ähnlichen Kulturformen, deren Blepharoplast neben dem Kern oder zwischen Kern und Geißelende gelegen ist, mit dem geißellosen Ende verkleben. Offenbar wirkt auf die Konfiguration der Agglomerationsrosetten weniger der Blepharoplast und seine Lage, als vielmehr das dynamische Prinzip des Bewegungsmechanismus der Flagellaten bestimmend ein. Bekanntlich bleibt bei der Trypanosomenagglomeration die Beweglichkeit der einzelnen Glieder der Rosette erhalten und ermöglicht es auch, daß unter gewissen Bedingungen eine völlige Lösung der Knäuel in einzelne bewegliche Trypanosomen stattfindet (Desagglomeration). Die Kraft, die die Trypanosomen mit dem geißelbewaffneten Ende nach vorwärts treibt, wirkt der Agglomerationskraft, die sie auf einem bestimmten Attraktionszentrum zusammenzieht und dort zu fixieren sucht, direkt entgegen, und so kommt es, daß sich die einzelnen Trypanosomen in den Knäueln schließlich in radiärer Richtung mit zentripetaler Bewegungstendenz, d. h. die Geißel nach außen, gruppieren. Wenn auch das Resultat der Agglomeration mit Hilfe dieser Vorstellung leicht verständlich ist, so ist allerdings damit die eigentliche Ursache durchaus nicht klargestellt. Wie ich in einer früheren Arbeit bereits ausgeführt habe (17), kann man häufig bei tadellos gefärbten Präparaten von Agglomerationsbildern weder eine Aufteilung des Blepharoplasts der einzelnen Trypanosomen, noch eine Spur von einem „Schleimhauch“ sehen, Erscheinungen,

die v. Prowazek in einen ätiologischen Zusammenhang mit der Agglomeration bringt.

Dies und die oben genannten Beobachtungen sprechen m. E. gegen die Annahme des letztgenannten Autors, daß der Blepharoplast direkt mit dem Agglomerationsphänomen etwas zu tun habe, und ich möchte annehmen, daß man Rosetten von Trypanosomen mit zentralwärts gerichteten Geißeln als Agglomerationsformen anzusprechen nicht berechtigt ist.

Damit soll natürlich nicht gesagt sein, daß alle Rosettenformen, bei denen die Trypanosomen die Geißeln peripheriewärts richten, als Agglomerate anzusehen sind. Mc Neal (18) hat zwar in Blutagarkulturen von Trypanosoma lewisi nur Rosetten mit zentralwärts gerichteten Geißeln gesehen, während die Kulturen von Trypanosoma brucei hauptsächlich Häufchen mit nach außen gerichteten Geißeln zeigen sollen. Indes kommen nach meinen Erfahrungen unter den natürlichen Entwicklungsbedingungen auch bei Trypanosoma lewisi Rosetten beider Arten vor. Auch v. Wasielewski und Senn sowie Martini (19) bilden solche mit peripheriewärts gerichteten Geißeln ab, die nicht durch Agglomeration entstanden sind. Man wird also in dem letzteren Falle jedesmal speziell darauf zu achten haben, ob es sich um eine Rosettenbildung durch Agglomeration oder durch Teilung handelt, während die Sterne mit zentralwärts gerichteten Geißeln zu Verwechslungen keinen Anlaß geben.

Die Kenntnis von der Bedeutung der verschiedenen Trypanosomenrosetten ist sowohl für das Verständnis der im immunen Organismus auftretenden Vorgänge, auf die später noch zurückzukommen sein wird, als auch für das Verhalten der Trypanosomen im wirbellosen Zwischenwirt von Wichtigkeit.

Die Übertragung der Rattentrypanosomen unter den natürlichen Bedingungen.

Im Jahre 1899 machten L. Rabinowitsch und W. Kempner (1) die Mitteilung, daß ihnen experimentell die Übertragung der Rattentrypanosomen von infizierten auf gesunde Ratten durch Vermittelung von Rattenflöhen gelungen sei. Welcher Spezies die Rattenflöhe angehörten, ist nicht festgestellt worden. Die beiden Verfasser sind der Überzeugung, daß die Flöhe als die gewöhnlichen Vermittler der Trypanosomeninfektion bei Ratten anzusehen seien, bis nicht andere Wege der Übertragung nachgewiesen sind. In einer späteren Arbeit (1903) derselben Autoren (20) findet sich als Ergänzung zu den obigen Angaben noch die Bemerkung, daß die Übertragung der Rattentrypanosomiasis durch die Vermittelung von Flöhen in 75—80% der Fälle gelänge.

Bestätigung haben die angeführten Versuchsergebnisse bisher nur insofern gefunden, als Sivori und Lecler (21) den von Rabinowitsch und Kempner erhobenen Befund bestätigten, daß man Ratten durch intraperitoneale Injektion des Magendarminhalts von Flöhen, die vorher an kranken Ratten gesogen hatten, mit Erfolg infizieren kann. Bei der mikroskopischen Untersuchung derartigen Flohmaterials hatten Rabinowitsch und Kempner seinerzeit auffälligerweise keinerlei Stadien von Trypanosoma lewisi finden können, obwohl eine sehr große Anzahl verschiedener Flöhe untersucht wurde. Für die Angabe von Rabinowitsch und Kempner, daß ihre Über-

tragungsversuche von Laveran und Mesnil bestätigt worden seien, eine Annahme, die auch von Nocht und Mayer (22) vertreten wird, habe ich in der Literatur keine Belege gefunden. Laveran und Mesnil (2) geben in ihrer Monographie (1904) nur an, daß die natürliche Infektion von Ratten „durch Flöhe und vielleicht durch Läuse" erfolge. Sie stützen sich dabei auf die Übertragungsversuche von Rabinowitsch und Kempner und auf den bereits zitierten Versuch von Sivori und Lecler, durch den m. E. aber nur bewiesen wird, daß Flöhe, die an infizierten Ratten gesogen haben, in ihrem Magendarmkanal virulente Trypanosomen beherbergen. Laveran und Mesnil selbst scheinen Übertragungsversuche nicht angestellt zu haben. Als Überträger der Trypanosomeninfektion haben Rabinowitsch und Kempner auch Läuse, die auf den von ihnen untersuchten wilden Ratten (Hausratten und Wanderratten) parasitierten, inbetracht gezogen, indes weder durch mikroskopische Untersuchung noch durch den Tierversuch eine Infektion der Läuse mit Trypanosomen nachweisen können. Die Art der Läuse ist leider nicht angegeben. Das vermißt man hier umsomehr, als andere Untersucher, Novy und Mc Neal (1903), Laveran und Mesnil (1904), v. Prowazek (1905) im Magendarminhalt von Rattenläusen zahlreiche und wohlerhaltene Trypanosomen gefunden haben. Mc Neal (28) berichtet auch, daß Novy und ihm die Übertragung der Infektion in einem Falle durch Läuse gelungen sei, die von einer infizierten Ratte abgesammelt und an eine gesunde unmittelbar angesetzt worden waren. 14 Tage danach waren bereits zahlreiche Trypanosomen in dem Blute der Ratte zu finden.

v. Prowazek, dem man eine ausführliche Bearbeitung der Überträgerfrage verdankt, ist bekanntlich auf Grund der Tatsache, daß er im Magendarmkanal einer auf Mus decumanus schmarotzenden Laus, Haematopinus spinulosus Burm., Entwicklungsstadien fand, die er als Ausdruck einer geschlechtlichen Entwicklung der Rattentrypanosomen ansprechen zu können glaubte, der Ansicht, daß diese Laus als Wirt für das Trypanosoma lewisi anzusehen sei. Gleichwohl glaubt auch er auf Grund der Versuche von Rabinowitsch und Kempner, daß an der Verbreitung der Infektion unter den Ratten Flöhe vermutlich ebenso mitwirken. Die experimentelle Übertragung der Infektion durch Läuse ist v. Prowazek jedoch nicht gelungen.

Mich selbst haben Untersuchungen über die Rolle der Läuse bei der Verbreitung des Rückfallfiebers dazu geführt, auch die Versuche mit Trypanosomen nach dieser Richtung hin zu vervollständigen. Wie ich auf dem Internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie (September 1907) kurz mitgeteilt (23) und später genauer ausgeführt habe (24), gelingt es, die experimentelle Rekurrensinfektion der Ratten durch Läuse auf gesunde Ratten zu übertragen.

Auf wilden Ratten (Mus decumanus), die ich zum größten Teil mit Trypanosoma lewisi infiziert fand, konnten bei uns gewöhnlich Läuse wie Flöhe nachgewiesen werden; diese Ratten schienen daher für eine Klärung der Überträgerfrage nicht sehr geeignet. Dagegen habe ich auf den vom Händler bezogenen zahmen Ratten niemals Flöhe gefunden, während gelegentlich, namentlich im Sommer und Herbst, Ratten aufgefunden wurden, die ganz außerordentlich stark von Läusen befallen waren. Es handelte sich in allen Fällen anscheinend um die gleiche Art, nämlich Haematopinus

spinulosus Burm. Mit solchen Ratten wurden gewöhnlich die Übertragungsversuche gemacht. Sie führten zu dem Resultat, daß die Verbreitung der Trypanosomeninfektion unter zahmen Ratten bei Gegenwart dieser Läuse außerordentlich prompt und häufig erfolgt, während sie bei Verwendung absolut läusefreier Tiere und Ausschließung anderer Möglichkeiten der Übertragung mit Sicherheit ausbleibt.

Die Versuche wurden zunächst so eingerichtet, daß die mit Läusen behafteten Ratten intraperitoneal infiziert und nach 3—4 Tagen, wenn die Infektion gut angegangen war, mit gesunden läusefreien Ratten in einem Gefäß zusammengesetzt wurden. Von besonderen Vorsichtsmaßregeln erwähne ich dabei, daß nach der regelmäßigen, zur mikroskopischen Untersuchung notwendigen Blutentnahme aus der Schwanzspitze die blutende Wunde jedesmal mit einem glühenden Eisen sorgfältig verschorft wurde, um eine mechanische Verschleppung von infiziertem Blut nach Möglichkeit zu vermeiden. Die Infektion durch die Schleimhaut des Magendarmkanals gehört ja ohnehin nach meinen Erfahrungen zu den Ausnahmen.

Ferner konnte man bei der verwendeten Versuchsanordnung an die Möglichkeit einer Übertragung durch den Geschlechtsverkehr denken. Obwohl, wie ich oben erwähnt habe, bei Ratten eine Übertragung von Rattentrypanosomen auf diesem Wege noch nicht gelungen ist, habe ich aus diesem Grunde nichtsdestoweniger entweder nur Männchen oder nur Weibchen zu dem einzelnen Versuche verwendet. Einer dieser Versuche, der hier erwähnt sein mag, ergab das Resultat, daß von neun, zu zwei infizierten und mit Läusen behafteten Ratten zugesetzten Tieren sechs infiziert wurden. Die drei übrigen mußten wohl über eine erhöhte Resistenz verfügen, denn sie wurden nicht krank, obwohl man an ihnen Läuse nachweisen konnte und sie sich bei einer nachfolgenden Infektion auch als nicht immun erwiesen.

Anderseits habe ich mich an der Hand einer sehr großen Reihe von Kontrollversuchen davon überzeugt, daß das Zusammenleben von infizierten und gesunden Tieren keine Übertragungsmöglichkeiten bietet, wenn man die Gegenwart von Läusen ausschließt. Ich habe wenigstens in keinem einzigen Falle unter etwa 40 Versuchen auf diese Weise eine Infektion zustande kommen sehen.

Die Übertragung der Krankheit gelingt auch, wenn man mit Läusen behaftete infizierte Tiere auf der Höhe der Infektion durch Ätherdämpfe tötet und die Kadaver in einen Behälter legt, in welchem sich gesunde Tiere befinden. Sobald der Kadaver erkaltet, kriechen die Läuse aus der Tiefe des Haarkleides hervor und suchen auf die lebenden Tiere zu gelangen. Auf diese Weise kann man also ohne große Mühe zahlreiche infizierte Läuse auf eine gesunde Ratte übertragen[1]).

Wie ich oben auseinandergesetzt habe, muß man schließlich doch mit der Möglichkeit rechnen, daß sich die Ratten per os und perkutan mit trypanosomenhaltigem Material infizieren können. Von vornherein ist also gegen die obigen Übertragungsversuche und den Versuch von Novy und Mc Neal der Einwand berechtigt, daß

[1]) Auf diese Weise ist im Frühjahr d. J. den Herrn Prof. Schuberg und Dr. Reichenow im Laboratorium des Kaiserl. Gesundheitsamtes die Übertragung auch direkt von einer spontan infizierten wilden Ratte, die getötet wurde, auf eine gesunde gelungen. Die wilde Ratte hatte nur Läuse.

auch bei der Vermittlung der Infektion durch Läuse der eine oder der andere Weg benutzt worden ist. Erstens besteht die Möglichkeit, daß die Ratten sich durch Auffressen trypanosomenhaltiger Läuse infizieren können, und zweitens könnte auch eine perkutane Übertragung dadurch erfolgen, daß die Ratten durch Kratzbewegungen infizierte Läuse auf ihrer Haut zerquetschen und sich das austretende trypanosomenhaltige Blut dabei in die Haut einreiben. Ich habe versucht, diese beiden Möglichkeiten im Experiment auszuschließen und bin dabei folgendermaßen zu Werke gegangen.

Die Versuchsratten wurden mit einem der Körperoberfläche dicht anliegenden Drahtnetz, das über den Kopf und die Schwanzwurzel hinausreichte, umwickelt und dabei dafür Sorge getragen, daß eine Bewegung des Kopfes hinlänglich verhindert wurde, um eine Berührung der Körperoberfläche mit der Schnauze unmöglich zu machen. Ferner wurden die Beine in solcher Stellung durch die Maschen des Drahtnetzes hindurch gezogen, daß Kratzbewegungen völlig verhindert waren. Die Tiere müssen in diesem hilflosen Zustande, der ihnen jede Bewegungsmöglichkeit nimmt, natürlich künstlich gefüttert werden. In dieser fixierten Lage wurden die Versuchsratten einzeln in Behälter gelegt, die frisch mit Äther getötete trypanosomeninfizierte Ratten mit Läusen enthielten. Dort verblieben sie zwei bis drei Tage. Darauf wurde der Kadaver herausgenommen und die Ratte aus ihrem Drahtnetz befreit. Da auch unter diesen Bedingungen in einem Falle eine Infektion erzielt wurde, so ist man zu dem Schluß berechtigt, daß die Übertragung der Rattentrypanosomen durch Hämatopinus auch bei Ausschluß einer Infektion durch Kratzen und Fressen, vielmehr durch physiologische Funktionen der Läuse zustande kommt. Es kann sich hier nur um das Blutsaugen und die Defäkation handeln.

Was die Fäces der Läuse anlangt, so habe ich versucht, durch mikroskopische Untersuchung derselben (Giemsapräparate) und durch Verimpfung von aufgeschwemmten Fäces infizierter Läuse auf gesunde Ratten Trypanosomen nachzuweisen: in beiden Fällen ohne Erfolg. In den mikroskopischen Präparaten konnten auch Überreste von Trypanosomenleibern niemals nachgewiesen werden. Da die Fäces der Läuse ein ziemlich trockenes Substrat darstellen, ist eine Existenz der Trypanosomen darin wohl nur in der Form von Dauerstadien denkbar. Der negative Ausfall der Impfversuche läßt auch die Existenz solcher Dauerformen in den Fäces der Läuse als unwahrscheinlich bezeichnen.

Man muß also den Schluß ziehen, daß die Läuse durch den Akt des Blutsaugens die Trypanosomen zu übertragen imstande sind.

Nach v. Prowazek soll im einzelnen die Übertragung beim Saugen so zustande kommen, daß die aufgenommenen Parasiten nach einer im Darm vor sich gehenden sexuellen Entwickelung die Darmwand der Laus durchwandern, mit dem Säftestrom in die Nähe der Speiseröhre gelangen und an einer bestimmten dünnwandigen Stelle wieder in das Lumen des Darmrohres eindringen. Bei einem späteren Saugakt werden sie dann in die Bißwunde hineingepreßt und rufen so bei gesunden Tieren eine Infektion hervor. Nach dieser Annahme sind also die Hämatopini in ähnlichem Sinne Wirtstiere für die Rattentrypanosomen, wie die Mücken für die Malariaplasmodien und die Zecken für die Piroplasmen.

Meine eigenen Versuche, um über diese Verhältnisse Klarheit zu gewinnen, sind zu einem eindeutigen Endergebnis zwar nicht gediehen, doch halte ich folgende Tatsachen für mitteilenswert.

Im Magendarminhalt von Läusen, die von nicht infizierten Ratten abgesucht wurden, habe ich niemals irgend welche Flagellaten gefunden. In dieser Beziehung haben wir also in den Läusen viel günstigere Objekte zum Studium etwaiger geschlechtlicher Vorgänge der Rattentrypanosomen, als bei den Glossinen, die häufig normalerweise im Darm flagellate Parasiten beherbergen und dadurch Veranlassung zu Verwechselungen solcher Flagellaten mit Trypanosomen geben (25). Auch der Bakteriengehalt im Magendarmkanal von Läusen ist ziemlich gering. In einem Falle fand ich große Mengen kleinster schraubenartiger Mikroorganismen, die mit den im Blut und im Peritonealexsudat von Mäusen und Ratten vorkommenden Spirillen Ähnlichkeit haben.

Im frischen Präparat betrachtet, bewegen sich die Trypanosomen aus solchem bluthaltigen Mageninhalt in unverminderter Energie. Mit der Giemsaschen Farblösung färben sie sich wie die gewöhnlichen Formen des Blutes und lassen dabei erkennen, daß die gewöhnlichen Teilungsvorgänge, die sich im Blute abspielen, auch innerhalb des Läusemagens keine wesentliche Einbuße erleiden. Es war nun von Interesse festzustellen, ob ein längerer Aufenthalt im Läusedarm die Trypanosomen in ihrer Lebensfähigkeit beeinträchtigt. In dieser Beziehung konnte ich durch mikroskopische Untersuchung solcher Exemplare von Läusen, die in ihrem Magen kein frisches rotes Blut, sondern mehr braunrot oder dunkelbraun gefärbte Massen enthielten (man kann das mit Hilfe einer Lupe leicht erkennen), zunächst feststellen, daß auch in solchen verdauten Massen, also beträchtliche Zeit nach der letzten Nahrungsaufnahme (schätzungsweise 8—16 Stunden), gut bewegliche, völlig normal aussehende Trypanosomen enthalten sein können.

Untersucht man die Läuse einer infizierten Ratte regelmäßig eine längere Zeit hindurch, so kann man feststellen, daß zu der gleichen Zeit, zu der im Blut der Ratte die Trypanosomen verschwinden und Immunität eintritt, auch im Magendarmkanal bei den Läusen dieser Ratte keine Trypanosomen mehr zu finden sind. Offenbar sind die Bedingungen, die dem Schwinden der Trypanosomen aus dem Blut zugrunde liegen, auch im Magendarmkanal der Läuse wirksam. Die eigentliche Lebensdauer der Rattentrypanosomen in den Hämatopini läßt sich auf diese Weise also nicht ermitteln. Läßt man die infizierten Läuse einer Ratte, die reichlich Trypanosomen im Blute beherbergt, auf eine gesunde Ratte überkriechen und untersucht dann täglich den Magendarminhalt dieser Läuse, so findet man gewöhnlich nur noch 24 Stunden nachher Trypanosomen darin. Nach 48 Stunden konnte ich niemals mehr Trypanosomen nachweisen. Setzt man voraus, daß die Läuse etwa zweimal innerhalb von 24 Stunden Blut saugen, wie es v. Prowazek annimmt und was auch meinen Erfahrungen ungefähr entspricht, so ergibt sich, daß die Trypanosomen ungefähr 36 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme aus dem Darmkanal verschwinden. Um so mehr war ich überrascht, als ich in infizierten Läusen, die in Petrischalen aufbewahrt worden waren — man setzt die Schälchen zweckmäßig in eine

feuchte Kammer, sonst gehen die Läuse sehr bald durch Eintrocknen zugrunde — noch nach 48 Stunden und gelegentlich auch nach 3 Tagen gut bewegliche und mit Giemsalösung gut färbbare Trypanosomen nachweisen konnte. Die Trypanosomen halten sich also in hungernden Läusen länger im Darm als in solchen, die nachträglich an normalen Ratten Nahrung zu sich nehmen können. Man gewinnt sogar den Eindruck, daß in manchen Läusen unter diesen Bedingungen eine lebhafte Vermehrung der Trypanosomen vor sich geht.

Wenn auch noch nicht erwiesen ist, ob und inwieweit diese Tatsache für den Übertragungsmechanismus der Trypanosomen durch Läuse von Bedeutung ist, so hielt ich die Beobachtung doch für erwähnenswert, zumal bei Übertragungsversuchen der Pest durch Flöhe Verjbitzki in Petersburg ähnliche Beobachtungen gemacht hat.

Außer den gewöhnlichen Trypanosomenformen des Rattenblutes habe ich im Magendarminhalt der Läuse gelegentlich frei bewegliche herpetomonasähnliche Jugendstadien mit dicht neben dem Kern oder zwischen Kern und Geißelende gelegenem Blepharoplast und ohne undulierende Membran gesehen. In mehreren Präparaten fanden sich auch Rosetten, die aus solchen Jugendformen bestanden und ihre Geißeln zentralwärts gerichtet hatten. Aus den oben besprochenen Gründen halte ich diese Rosetten im Gegensatz zu v. Prowazek, der sie auch in den Läusen gesehen hat, nicht für Agglomerate.

In einigen sehr seltenen Fällen waren ferner im Giemsapräparat abgerundete geißellose Formen mit rundem Kern und stäbchenförmigem Blepharoplast zu sehen, die sich durch eine auffällige blaßblaue Färbung des Protoplasmas von den anderen Formen unterschieden. Sie ähnelten einigermaßen den von Moore und Breinl bei Dourinetrypanosomen beschriebenen „latent bodies", aus denen sich nach der Auffassung dieser Autoren neue Trypanosomen bilden können (S. 291 ihrer Arbeit unter Fig. 1 c.); ich möchte sie aber in Übereinstimmung mit v. Prowazek als Involutionsformen ansprechen (Tafel III Fig. 50 und 51 seiner Arbeit), zumal auch Gennaro Fusko (28) in Kulturen von Trypanosoma brucei ähnliche Involutionsformen gesehen hat. Daß im Magendarmkanal der Läuse auch mancherlei Degenerationsvorgänge an den Trypanosomen vor sich gehen, ergibt sich auch aus anderen Bildern, die man häufig bei den hungernden Läusen (siehe oben) zu sehen bekommt: das in den Umrissen noch erkennbare Trypanosoma zeigt dabei im Giemsapräparat neben dem färberisch gut darstellbaren Kern und Blepharoplast mit Randfaden ein mehr oder weniger zerstörtes Protoplasma. Auch daraus, daß in den Fäces der Läuse Trypanosomen nicht mehr zu finden sind, kann man schließen, daß im unteren Darmabschnitte der Läuse allmählich eine Vernichtung der Trypanosomen eintreten muß.

Nach Ablauf von drei Tagen habe ich in Läusen, bei denen eine Neuinfektion auszuschließen war, bisher Trypanosomen niemals mehr gefunden und auch eine Infektion von Ratten durch Läuse, deren letzte Trypanosomenaufnahme so lange zurücklag, nicht auftreten gesehen.

Die Inkubationsdauer betrug bei meinen Übertragungsversuchen gewöhnlich 7—12 Tage (bei Flöhen nach Rabinowitsch und Kempner 2—3 Wochen) und auch dann, wenn im Versuch die Möglichkeit gegeben war, habe ich später als 12 Tage,

nachdem die Läuse zum letzten Male infiziertes Blut gesogen haben konnten, eine Übertragung auf gesunde Ratten bisher niemals beobachtet. Man müßte aus diesen Beobachtungen folgern, daß die infizierten Läuse länger als bestenfalls 5 Tage nicht infektiös sind. Bei dem lebhaften Nahrungsbedürfnis der Läuse genügt diese Zeit immerhin vollauf, um eine oder mehrere Übertragungen zu ermöglichen.

Aus den experimentellen Untersuchungen kann man mithin gegenwärtig meines Erachtens noch keinen anderen Schluß ziehen als den, daß die Übertragung der Trypanosomen durch das Blutsaugen der Läuse auf einer direkten Inokulation von infiziertem Blute beruht, das vorher beim Saugen am infizierten Tier in den Magendarmkanal der Läuse hineingelangt war. Meines Erachtens sind auch weniger morphologische als objektive experimentelle Beweise, wie sie Kleine (43) bezüglich des Trypanosoma brucei bei Glossinen veröffentlicht hat, notwendig und geeignet, um die Zweifel an der Rolle einer geschlechtlichen Entwickelung der Trypanosomen bei der Übertragung durch Läuse zu beseitigen.

Von diesem Standpunkt aus konnte man von vornherein mit der Möglichkeit rechnen, daß auch die Übertragung anderer Trypanosomen durch Läuse von Ratte zu Ratte gelingen würde. Mehrfache Versuche, die zu diesem Zweck mit einem auf Ratten gezüchteten und für diese sehr virulenten Naganastamm angestellt wurden, sind indessen durchweg negativ ausgefallen. Gewöhnlich werden die Experimente so angeordnet, daß zwei bis drei mit Nagana infizierte und mit Läusen behaftete Ratten zu gesunden läusefreien in einen gemeinsamen Behälter gesetzt wurden. In einem Falle wurde so verfahren, daß eine mit Läusen behaftete Ratte gleichzeitig mit Trypanosoma lewisi und Trypanosoma brucei infiziert wurde. Dabei wurde nur eine Übertragung von Rattentrypanosomen erzielt. Diese Angaben stimmen mit den Angaben von Möllers (41), der zahlreiche gleichzeitige Versuche jüngst veröffentlicht hat, vollkommen überein.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Läuse, die von den naganakranken Ratten abgesucht wurden, zeigte es sich dann, daß die Trypanosomen in diesem Falle sehr rasch aus dem Mageninhalt verschwinden: sie gehen bereits im unverdauten rotgefärbten Mageninhalt massenhaft zugrunde und sind in den verdauten braunrot gefärbten Massen des Mageninhalts nicht mehr nachzuweisen. Auch wenn man mit Naganablut infizierte Läuse in Petrischalen verwahrt, findet man in auffälligem Gegensatz zu den oben geschilderten Befunden bei Trypanosoma lewisi keine Vermehrung, sondern eine baldige Vernichtung der darin enthaltenen Trypanosomen.

Man geht also wohl nicht fehl, wenn man daraus auf eine Anpassungsfähigkeit der Rattentrypanosomen an den Organismus der Läuse schließt, die den Naganatrypanosomen, auch wenn sie experimentell an den Rattenorganismus gewöhnt worden sind, nicht zu Gebote steht. Die rasche Vernichtung der Naganatrypanosomen im Läusemagen stimmt also mit der Tatsache ihrer Nichtübertragbarkeit durch Läuse gut überein.

Experimentell haben sich Beweise dafür, daß etwa die Nachkommenschaft von infizierten Läusen die Fähigkeit besitzt, Trypanosomen zu übertragen, bisher nicht er-

bringen lassen. Wenigstens habe ich nie eine Infektion entstehen sehen, wenn gesunde Ratten, die mit infizierten Läusen besetzt worden waren, ohne selbst krank zu werden, längere Zeit hindurch mit gesunden zusammengehalten und beobachtet wurden. v. Prowazek glaubt bekanntlich einmal in einem Läuseei ein Trypanosoma nachgewiesen zu haben, indes hält auch er eine Vererbung auf die Nachkommenschaft nicht für das gewöhnliche.

Alles in allem genommen, haben die experimentellen Untersuchungen mithin keine Anhaltspunkte für die Prowazeksche Annahme ergeben, daß die Rattentrypanosomen in den Läusen einen spezifischen Entwicklungsgang durchmachen; vielmehr sprechen die gefundenen Tatsachen nur dafür, daß die Übertragung durch direkte Inokulation der im Magendarmkanal der Läuse längere Zeit am Leben bleibenden Trypanosomen erfolgt.

Ob die Rattentrypanosomen an den Organismus gewisser Flöhe in gleicher Weise angepaßt sind, und wie hier die von Rabinowitsch und Kempner festgestellte Übertragung zustande kommt, darüber fehlen mir eigene Erfahrungen. Der auffällige Befund, daß durch mikroskopische Untersuchung im Mageninhalt von Flöhen die mit dem Blute aufgenommenen Trypanosomen nicht nachzuweisen sein sollen, bedarf jedenfalls noch einer Aufklärung.

Bezüglich der Übertragungsversuche mit Läusen erscheint wohl noch die Beobachtung erwähnenswert, daß die Versuche in den verschiedenen Zeiten des Jahres ganz auffällig ungleichmäßige Ergebnisse liefern. Da mir solche Differenzen auch bei der Rekurrensübertragung durch die gleichen Läuse aufgefallen sind, möchte ich meinen, daß die Ursache dafür nicht bei den Trypanosomen, sondern bei den Läusen zu suchen ist. In welcher Weise aber der Einfluß der Jahreszeit dabei zur Geltung kommt, darüber fehlt mir ein Urteil. Die besten Resultate habe ich gewöhnlich im Frühjahr und Herbst bei den Übertragungsversuchen gehabt.

Verschiedenartigkeit der Vermehrungsbedingungen für die Rattentrypanosomen im Lymphgefäßsystem und im Blut.

Man hat darum gestritten, ob die Vermehrungsbedingungen für die Rattentrypanosomen im Blut oder im Lymphsystem günstigere seien. Rabinowitsch und Kempner, sowie Laveran und Mesnil sahen bei intraperitonealer Infektion mit trypanosomenhaltigem Blute zuerst eine Vermehrung der Flagellaten im Peritoneum, der dann früher oder später der Übertritt ins Blut und eine weitere Vermehrung daselbst folgte. Sie schlossen daraus, daß die Peritonealflüssigkeit ein günstigeres Medium für die Rattentrypanosomen darstelle als das kreisende Blut. v. Wasielewski und Senn sowie Jürgens sind der entgegengesetzten Ansicht und halten das Blut für den günstigsten Nährboden, da die Trypanosomen im Beginn der Infektion sobald wie möglich die Blutbahn zu erreichen suchen.

Die beiden Beobachtungen bestehen nach meiner Erfahrung gleichmäßig zu Recht. Die zutreffende Erklärung aber ist mir erst durch das Studium über Immunität bei dieser Infektion nahegelegt worden. Reinfiziert man nämlich zahme Ratten, die eine experimentelle Infektion mit trypanosomenhaltigem Blut überstanden haben,

durch intraperitoneale Einspritzung, so treten gewöhnlich im Blut nachweisbare Mengen von Trypanosomen nicht auf. Dagegen kann man im Peritonealexsudat häufig noch tagelang nach dieser zweiten Einspritzung Trypanosomen in allen möglichen Teilungsstadien nachweisen, und erst allmählich tritt auch hier eine Sterilisierung ein. Ähnlich ist das Verhalten, wenn man Meerschweinchen und weiße Mäuse intraperitoneal einspritzt, die bekanntlich von Natur aus gegen die Infektion mit Trypanosoma lewisi refraktär sind. Während im Blut bei diesen Tieren keine oder nur ganz spärliche Trypanosomen auftreten, kann man im Peritonealexsudat viel längere Zeit Trypanosomen finden und zwar auch Teilungsstadien. Daraus geht hervor, daß die Schutzkräfte immunisierter bezw. natürlich resistenter Tiere gegenüber den Rattentrypanosomen im kreisenden Blut intensiver zur Wirkung kommen als im Peritonealexsudat. Auch die für Trypanosoma lewisi empfänglichen Ratten verfügen von Natur aus über ein gewisses Maß solcher Schutzkräfte, die den Verlauf einer experimentellen Infektion zu beeinflussen vermögen, je nachdem die Virulenz der Parasiten oder ihre Zahl größer oder geringer ist. Spritzt man einer Normalratte eine größere Quantität trypanosomenhaltigen Blutes ein, so reichen die Schutzkräfte nicht aus, um die aus dem Peritoneum ins Blut übertretenden Flagellaten abzutöten oder an der Entwicklung zu hindern. Ist die Zahl der eingespritzten Parasiten oder ihre Virulenz dagegen gering, so reichen die im Blut kreisenden normalen Antikörper zunächst aus, um die in die Blutbahn eindringenden Parasiten zu vernichten; inzwischen geht eine Vermehrung in der weniger Antikörper enthaltenden Peritonealflüssigkeit vor sich, der gegenüber die Schutzkräfte des Blutes nicht mehr gewachsen sind. In dem ersten Falle tritt die Blutinfektion sehr bald nach der Einspritzung auf, in anderen mehr oder weniger später. Wenn also von Rabinowitsch und Kempner, sowie Laveran und Mesnil eine primäre Entwicklung der Rattentrypanosomen im Peritoneum und von Wasielewski und Senn sowie Jürgens ein baldiger Übertritt ins Blut beobachtet worden ist, so hängt das nicht von der Überlegenheit der einen oder anderen Flüssigkeit als Nährboden ab, sondern es ist durch das jeweilige Verhältnis des Gehalts an normalen Antikörpern im Blut zur Virulenz und Zahl der einverleibten Trypanosomen bedingt. Da der jeweilige Gehalt an Schutzstoffen im Peritonalexsudat für unseren Fall hinter dem des Blutes zurücksteht, so sind dort auch die Wachstumswiderstände natürlich geringer. In diesem Sinne könnte man also die Peritonealflüssigkeit als den „besseren" Nährboden für Rattentrypanosomen ansprechen.

Übertragbarkeit der Rattentrypanosomen auf andere Laboratoriumstiere.

Das Trypanosoma lewisi gehört bekanntlich zu den Arten von Trypanosomen, die an den Organismus der Ratten so spezifisch angepaßt sind, daß sie sich in anderen Lebewesen dauernd nicht am Leben zu erhalten vermögen. Robert Koch (40) gibt dafür die einleuchtende Erklärung, daß sie durch langdauerndes Parasitieren im gleichen Wirt allmählich eine ganz strenge Konstanz ihrer Organisation erfahren haben, die auch einer vorübergehenden Anpassung an veränderte Lebensbedingungen nicht fähig ist. In der Tat scheint der Mangel einer Anpassungsfähigkeit bei diesen

Mikroorganismen so erheblich zu sein, daß sich die Existenzmöglichkeit nicht einmal auf das ganze Genus Mus erstreckt. Die Übertragungsversuche auf Mäuse haben wenigstens bisher überall ganz negative Resultate gezeitigt. Allerdings reicht es zum Beweis der Übertragbarkeit meiner Meinung nach keinesfalls aus, wenn man sich damit begnügt, in einem gewissen Zeitraum nach der Infektion mikroskopisch Parasiten im Blute nachzuweisen. Man muß unbedingt fordern, daß von dem ursprünglich infizierten Tier eine Weiterimpfung auf die gleiche Tierart gelingt, und nur wenn das gelingt, halte ich den Beweis der Übertragbarkeit für erbracht. Von diesem Standpunkt aus kann man auch die Angabe von Laveran und Mesnil, daß sich die Rattentrypanosomen auf Meerschweinchen übertragen ließen, nicht für erwiesen ansehen. Aus diesem Grunde kann ich auch Lühe (29) nicht beipflichten, der die gewöhnliche Annahme, daß Trypanosoma lewisi ausschließlich in Ratten zu leben vermöge, für etwas zu weit gehend hält.

Der Umstand, daß Trypanosoma lewisi bereits in mehreren Arten von Ratten aufgefunden worden ist und auch experimentell die wechselseitige Übertragung von einer Rattenspezies auf andere gelingt, während bei Mäusen weder von Natur aus eine gleiche Trypanosomeninfektion bekannt noch experimentell die Übertragung von zahmen Ratten auf zahme Mäuse gelungen ist, steht in einem gewissen Widerspruch zu der nahen Verwandtschaft zwischen Ratten und Mäusen und stimmt mit der von Uhlenhuth und Weidanz (42) festgestellten Tatsache, daß das Ratten- und Mäuseblut mittels der biologischen Eiweißdifferenzierung keine Verwandtschaftsreaktionen geben, auffällig überein. Uhlenhuth und Weidanz glauben, daß sich aus dieser negativen Reaktion die Unempfänglichkeit der Ratten für das Mäusekarzimon erkläre.

Immunität.

Die Immunität bei der Rattentrypanosomiasis, zuerst von Rabinowitsch und Kempner beobachtet, hat seither das Interesse der Forscher unvermindert in Anspruch genommen, sonderlich, nachdem man erkannt hat, daß die wirtschaftlich wichtigen Trypanosomeninfektionen der Menschen und der Haustiere sich in dieser Beziehung wesentlich anders verhalten. Die Immunität in den letzteren Fällen, sofern eine solche überhaupt zustande kommt, ist nicht wie die Immunität bei bakteriellen Infektionen mit einer Sterilisierung des Organismus verbunden, sondern sie stellt sich, wie es bei protozoischen Krankheiten gewöhnlich der Fall ist, mehr als eine Toleranz gegen die im Körper dauernd weiterlebenden Parasiten dar, die man auch mit dem zuerst für Piroplasmosen geprägten Ausdruck des „Gesalzenseins" bezeichnen kann. Tiere, die gesalzen sind, sind Parasitenträger, die nur gegen die krankmachenden Eigenschaften des Infektionserregers widerstandsfähig geworden sind.

In jüngster Zeit hat nun Claus Schilling (30) die Ansicht ausgesprochen, daß es sich auch bei der Infektion mit Trypanosoma lewisi nicht um eine Immunitas sterilisans, sondern um eine Toleranz handeln möge, wie bei den Trypanosomen der Menschen und Haustiere und wie bei den Piroplasmen. In der Tat läßt der überaus chronische Verlauf der Infektion bei unter natürlichen Bedingungen infizierten wilden Ratten einen solchen Analogieschluß wohl als berechtigt erscheinen. Das Studium der Immunität bei zahmen Ratten liefert in dieser Beziehung gewisse Aufschlüsse.

Im allgemeinen unterscheidet sich die experimentelle Infektion der zahmen Ratten von der natürlichen bei wilden Ratten dadurch, daß im ersten Falle die Trypanosomen weit zahlreicher auftreten und schneller wieder verschwinden. Das Maximum der Dauer ist bei den von mir benutzten verschiedenen Stämmen 5—6 Wochen gewesen, und im allgemeinen erstreckt sich der Verlauf auf 3—4 Wochen; bei wilden Ratten hat man die natürliche Infektion mehrere Monate lang verfolgt. Je länger die betreffenden Trypanosomen auf zahmen Ratten gezüchtet worden sind, desto größer ist die Zahl der Blutparasiten und desto akuter der Verlauf der Infektion. Es gelingt dann bei subkutaner Einverleibung von Bruchteilen einer Öse trypanosomenhaltigen Blutes mit Sicherheit eine Infektion zu erzielen, die in 3—4 Wochen zu Ende geht. Bei der anfänglichen Übertragung von wilden auf zahme Ratten haftet das Virus gewöhnlich nur bei intraperitonealer Einverleibung und bei größeren Infektionsdosen, auch führt es dann zu einer weit geringeren Anhäufung von Parasiten im Blute mit entsprechend chronischem Verlauf. Der abweichende Verlauf der experimentellen Infektion der zahmen Ratten ist also offenbar abhängig von der jeweiligen Virulenz der Trypanosomen für den Organismus der Ratten; dagegen spielen andere prinzipielle Unterschiede anscheinend keine bedeutende Rolle. Es liegt also wohl auch kein Hinderungsgrund vor, die Ergebnisse der experimentellen Immunität auf die natürlichen Bedingungen zu übertragen.

Je größer die Zahl der im Blute kreisenden Trypanosomen und je akuter dementsprechend der Verlauf der Infektion ist, desto sicherer tritt eine Immunität ein, und desto länger dauert sie an. Bei den von mir benutzten virulenten Stämmen war in der Regel bereits nach dem einmaligen Überstehen der Infektion eine ausgesprochene Immunität zu erkennen, und die wenigen Ausnahmen von der Regel fielen gewöhnlich mit einem ungewöhnlich verzögerten Verlauf zusammen, bei dem infolge Verwendung kleinerer Impfdosen oder in der Virulenz abgeschwächter Trypanosomen die Zahl der Parasiten im Blute nicht die gewöhnliche Größe erreichte. Nach einer nochmaligen Infektion ließ sich aber auch in diesen Fällen Immunität erzielen.

Trotz zahlreicher, darauf gerichteter Beobachtungen habe ich bei Tieren, die nach einer erstmaligen Einspritzung trypanosomenhaltigen Blutes nicht mehr mit einer mikroskopisch feststellbaren Blutinfektion reagiert hatten, auch in längeren Beobachtungsabschnitten (3—6 Monaten) danach niemals die Trypanosomen spontan wieder auftreten sehen. Das ist auch nicht der Fall, wenn man die betreffenden Ratten willkürlichen Schädigungen ihrer Konstitution aussetzt, um ihre Widerstandsfähigkeit etwaigen latenten Infektionserregern gegenüber herabzusetzen. Es wurden dazu teilweise chemische Reagenzien benutzt und zwar hauptsächlich Atoxyl und Arsenophenylglycin (Ehrlich), die in großen Dosen (0,04 ccm Atoxyl bezw. 0,03 ccm Arsenophenylglycin) den immunen Ratten subkutan eingespritzt wurden. Außerdem wurde eine größere Anzahl von gegen Trypanosomiasis immunen Ratten mit einem virulenten Rattenpassagestamm von Zeckenfieber infiziert. Durch beide Methoden ist es indes niemals gelungen, bei den betreffenden Tieren wieder Trypanosomen zum Vorschein zu bringen. Mithin berechtigen die Ergebnisse wohl zu dem Schluß, daß es sich in

den erwähnten Fällen um eine echte Immunitas sterilisans und nicht um eine Toleranz gehandelt hat. Wenn also unter den natürlichen Bedingungen die wilden Ratten infolge des chronischen Infektionsverlaufes mit jeweilig relativ geringer Zahl von Flagellaten im Blute in der Regel keine volle Immunität erwerben sollten, was nach den experimentellen Erfahrungen nicht unverständlich erscheinen würde, so muß man es doch als erwiesen betrachten, daß auf experimentellem Wege eine echte sterilisierende Immunität gegen Trypanosoma lewisi gewonnen werden kann.

Die Dauer dieser Immunität unterliegt offenbar mannigfachen Schwankungen. Gelegentlich habe ich sie nach 5 und 6 Monaten noch in vollkommenster Weise bestehen und in anderen Fällen bereits nach 6 Wochen erheblich beeinträchtigt gesehen, ohne daß sich im einzelnen Falle immer eine Erklärung dafür finden ließ. Auch bei Tieren, die häufig vorbehandelt sind (6—8mal), dürfte man nach meinen Erfahrungen aber mit einer vollkommenen Immunität, die länger als ein Jahr andauert, nicht rechnen können. Wenn auch diese Ergebnisse direkt auf die durch Trypanosomen hervorgerufenen Krankheiten nicht zu übertragen sind, so kann man doch daraus entnehmen, daß eine experimentelle Immunisierung gegen diese Art von Krankheitserregern nicht an prinzipiellen Unmöglichkeiten zu scheitern braucht, und ferner, daß auch die Möglichkeit, experimentell eine praktisch ausreichende Immunität zu erzielen, nicht von vornherein dadurch widerlegt ist, daß das natürliche Überstehen einer Infektion keine merkliche Immunität hinterläßt.

Von diesen Gesichtspunkten aus schien es ganz besonders interessant, bei einer Trypanosomiasis, gegen die man auf experimentellem Wege in vollkommenster Weise aktiv immunisieren kann, die Brauchbarkeit der verschiedenen gebräuchlichen Immunisierungsverfahren zu erproben.

Zuerst wurde das mit der Einverleibung von Trypanosomenblut versucht, in dem die Parasiten durch Erwärmung abgetötet worden waren (eine Stunde bei 60°). Wie bereits Jürgens beobachtet hat, werden die Rattentrypanosomen durch längeres Erwärmen auf 58° nicht nur abgetötet, sondern auch in ihrer morphologischen Struktur stark verändert oder gar aufgelöst. Mehrmalige Vorbehandlung mit je 2—3 ccm solchen frisch bereiteten Blutes hat in meinen Versuchen bezüglich der Immunität gar keinen Einfluß erkennen lassen. Auch der Verlauf der nachträglichen Infektion zeigte sich in keiner Weise verändert.

Das gleiche gilt von der Vorbehandlung mit Trypanosomenblut, das in Glasschalen bei 37° zum Trocknen gebracht, dann mit physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und eingespritzt wird. Auch damit ließ sich eine merkliche Beeinflussung der nachfolgenden Infektion nicht erzielen.

Etwas besser waren die Resultate, wenn man frisches trypanosomenhaltiges Blut direkt von der Ratte aus in destilliertes Wasser laufen und bei Zimmertemperatur in Kölbchen mit Glasperlen 24 Stunden ausschütteln ließ. Wiederholte Einspritzungen mit derartig gewonnenen Extrakten haben gewöhnlich die Wirkung, daß eine nachfolgende Infektion mit virulentem Blute nicht akut wie bei den Kontrolltieren verläuft, sondern sich über eine längere Zeit erstreckt: die Flagellaten erscheinen im Blut in relativ geringerer Anzahl und halten sich um so länger darin. Extrakte aus

normalem Blut haben diese Wirkung nicht, so daß ich annehme, die Änderung in dem Infektionsverlauf ist durch die Vorbehandlung mit Bestandteilen der Trypanosomenleiber hervorgerufen worden, die bei dem 24stündigen Schütteln zugrunde gegangen sind. Untersucht man nämlich den auszentrifugierten Rückstand solcher Extrakte, so findet man auf Giemsapräparaten die Trypanosomenleiber vollständig zerstört, nur der Randfaden, gelegentlich mit dem daran befindlichen Blepharoplast, sowie Kerne und Kernreste lassen sich noch mit Sicherheit nachweisen. Ähnlich wie in dem obigen Falle sind die Ergebnisse der Immunisierung, wenn man in trypanosomenhaltigem Blut die Parasiten durch Zusatz einiger Tropfen 10%iger Lösungen von taurocholsaurem Natrium auflöst und die Flüssigkeit nach einigen Minuten intraperitoneal injiziert. Zur Erläuterung diene das folgende Versuchsprotokoll:

	18. 10.	30. 10.	31. 10.	1. 11.	2. 11.	3. 11.	4. 11.	5. 11.	6. 11.	7. 11.	8. 11.	9. 11.	10. 11.	20. 11.	30. 11.	10. 12.	20. 12.	31. 12.
Ratte 1	—	1,0 ccm trypanosomenhaltig. Blut ip.	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0	0
„ 2	2,0 ccm Schüttelextrakt aus trypanosomenhaltigem Blut subkut.		0	+	+	++	+	+	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+
„ 3	2,0 ccm trypanosomenhaltig. Blut + Natr. tauroch.		+	+	+	0	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+

Die Antigeneigenschaften des Trypanosomeneiweißes werden anscheinend durch die Extraktion bei Zimmertemperatur und die Auflösung mit gallensaurem Natrium weniger geschädigt als durch Erwärmen auf 60° oder durch Trocknen bei 37°. Eine wirksame Immunisierung mit abgetötetem Virus ist aber mit keiner der angewandten Methoden zu erreichen.

Daß das Serum von Ratten durch das Überstehen der Infektion mit Rattentrypanosomen spezifische antiparasitäre Eigenschaften gewinnt, haben bereits Rabinowitsch und Kempner erkannt. Durch wiederholte Vorbehandlungen mit trypanosomenhaltigem Blut kann man die schützende Wirkung des Blutserums so weit steigern, daß es in relativ sehr geringen Mengen eine gleichzeitig gesetzte Infektion verhindert. Laveran und Mesnil berichten über ein Serum, das in der Dosis 0,25 ccm vollkommen und in der Dosis 0,1 ccm noch ziemlich stark eine Infektion beeinflußte. Ich selbst habe wiederholt Sera in der Hand gehabt, die noch in der Dosis 0,05 ccm vollkommen gegen eine intraperitoneale Infektion mit 0,5 bis 1,0 ccm trypanosomenhaltigem Blut schützten, von dem bereits Bruchteile einer Öse mit Sicherheit eine Infektion verursachten. Weitertreiben läßt sich anscheinend die Immunität aber nicht; meine Bemühungen jedenfalls, Sera mit noch höherer Wertigkeit durch langandauernde Vorbehandlung zu erzielen, sind immer erfolglos geblieben.

Im Hinblick auf die praktische Immunisierung war es nun weiter von Interesse zu untersuchen, ob eine kombinierte Behandlung mit virulenten Parasiten und hochwertigem Immunserum eine ausreichende Immunität hinterläßt. Die Versuche, die Laveran und Mesnil darüber anstellten, hatten ergeben, daß nur ungefähr 50%

der so vorbehandelten Tiere immun wurden, und zwar handelte es sich dabei in fast allen Fällen um Tiere, bei denen die Vorbehandlung mit der Mischung von Parasiten und Immunserum keine vollständige Unterdrückung der Infektion, sondern einen abgeschwächten und verkürzten Infektionsverlauf im Gefolge hatte. Meine Resultate decken sich mit denen von Laveran und Mesnil insofern, als ich bei kombiniert behandelten Ratten, die in der Folge keine Parasiten im mikroskopischen Präparat hatten erkennen lassen, eine nennenswerte Immunität gegen eine 8—10 Tage danach vorgenommene Infektion niemals gesehen habe. Auch durch Verimpfung größerer Mengen von Trypanosomenblut (1—2 ccm) plus Immunserum konnte an diesem negativen Resultat eigentlich nichts geändert werden. Auf der anderen Seite ergibt eine Kombination von virulenten Parasiten mit nicht vollständig zum Schutz ausreichenden Serumgaben so ungleichmäßige Ausschläge — bald eine Verkürzung und Abschwächung und bald eine abnorme Verlängerung des Infektionsverlaufes —, daß meiner Meinung nach die Möglichkeit einer kombinierten Schutzimpfung nicht einmal bei Rattentrypanosomen in Frage kommen könnte.

Eine zweite Methode der kombinierten Schutzimpfung ist durch die modernen chemotherapeutischen Versuche bei der Bekämpfung von Infektionskrankheiten bekannt geworden, nämlich die prophylaktische oder präventive Behandlung mit virulentem Virus plus dem Medikament. Am einfachsten liegen die Verhältnisse bekanntlich bei der Verwendung von Hühnerspirochaeten und Atoxyl. Spritzt man einem Huhn (Uhlenhuth, Groß und Bickel) gleichzeitig eine Dosis spirochaetenhaltiges Blut und Atoxyl (0,05 ccm) oder atoxylsaures Quecksilber (0,01 ccm) ein, so tritt gewöhnlich eine so leichte Infektion bei dem Huhn auf, daß sie klinisch und mikroskopisch gar nicht festzustellen ist. Trotzdem erweisen sich die geimpften Tiere durch eine Nachimpfung mit Spirochaeten als ebenso immun, wie die Hühner, die vorher eine gewöhnliche Infektion überstanden haben. Das gleiche ist der Fall, wenn man eine beginnende Spirochaeteninfektion mit Atoxyl oder atoxylsaurem Quecksilber (Uhlenhuth und Manteufel) zur Heilung bringt. Auch für die Trypanosomosen sind diese experimentellen Ergebnisse von Bedeutung, da das Atoxyl auch bei ihnen als Medikament wirkt und zum Teil bereits praktisch Verwendung findet. Neuerdings hat denn auch Claus Schilling (30) einige Versuche veröffentlicht, aus denen ihm hervorzugehen schien, daß Ratten, die mit Naganatrypanosomen infiziert und mittels Arsenophenylglycin geheilt worden waren, in gewissem Grade eine Immunität gegen eine folgende Infektion mit Nagana erwürben. Uhlenhuth und Woithe, die bei Dourine ähnliche Untersuchungen mit Atoxyl an Ratten und Mäusen angestellt haben, konnten dadurch keine absolute Immunität erzielen, ebensowenig durch eine öftere Behandlung von Dourinetieren mit „unterheilenden" Dosen Atoxyl, wodurch die Infektion mit Trypanosomen einen chronischen und rezidivierenden Verlauf bekommt.

Bei eigenen diesbezüglichen Untersuchungen mit Nagana und Atoxyl sind die Resultate auch nicht günstiger gewesen. Die Naganatrypanosomen reagieren bekanntlich ebenso wie Dourinetrypanosomen sehr prompt auf Atoxyl, so daß man bei stark infizierten Ratten 24 Stunden nachher gewöhnlich keine Parasiten im mikroskopischen Präparat mehr findet; auch Tage und Wochen bleiben die Tiere anscheinend frei von

Parasiten. Uhlenhuth und Woithe (31) haben neuerdings den Beweis erbracht, daß unter diesen Bedingungen tatsächlich eine vollständige Sterilisierung zustande kommen kann.

Reinfiziert man solche von Nagana geheilten Tiere einige Tage nach der Heilung, so tritt die Blutinfektion ebenso rasch auf und verläuft ganz ebenso wie bei nicht behandelten. Dagegen gelingt die zweite Heilung mit Atoxyl ebenso gut wie beim ersten Male. In dieser Weise wurden einzelne Ratten vier- und fünfmal infiziert und wieder geheilt, ohne daß nach der letzten Infektion eine in nennenswertem Grade erhöhte Resistenz beobachtet worden wäre.

Da die Bedingungen für eine Immunisierung bei den Rattentrypanosomen anscheinend günstiger sind, wurden die Versuche hier später wiederholt. Zuerst wurde ein älteres Atoxylpräparat der Vereinigten Chemischen Werke in Charlottenburg benutzt. Die gleichzeitige Einspritzung von Atoxyl (0,03—0,04 g) und Trypanosomenblut (0,5 ccm) vermochte die Infektion in keinem Falle zu hindern oder abzukürzen: das Verfahren war also für den Zweck der kombinierten Immunisierung nicht anwendbar. Bei bereits bestehender Blutinfektion gelang es dagegen mittels zweimaliger Einspritzung von 0,03—0,04 g Atoxyl, mit diesem Präparat die Trypanosomen zum Verschwinden zu bringen. Die geheilten Tiere erwiesen sich gegen eine nachfolgende Infektion sämtlich als immun. Da im ganzen etwa acht bis zehn derartige Versuche mit dem gleichen Resultat verlaufen waren, läßt sich ein Beobachtungsfehler wohl als ausgeschlossen bezeichnen.

Atoxylwirkung bei Trypanosomiasis der Ratten.

		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	14. Tag	15. Tag	16. Tag	18. Tag	20. Tag
Ratte a	1,0 ccm Trypanosomenblut ip. 0,02 ccm Atoxyl, subkutan	+	+	+ 0,02 ccm Atoxyl	++	++	+	0	0	1,0 ccm Trypanosomenblut	0	0	0	0
„ b	desgl.	+	+	++ 0,02 ccm Atoxyl	+	++	++	0	0		0	0	0	0
„ c	1,0 ccm Trypanosomenblut	+ 0,02 ccm Atoxyl	++	++ 0,02 ccm Atoxyl	+	+	++	0	0		0	0	0	0
„ d	desgl.	+ 0,02 ccm Atoxyl	++ 0,02 ccm Atoxyl	+	0	†								
„ e	desgl.	+ 0,04 ccm Atoxyl	+	+	++ 0,04 ccm Atoxyl	+	0	0	0		0	0	0	0

Die Mitteilung Schillings (32) in seinem Referat gelegentlich der Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908, daß sich das Atoxyl Rattentrypanosomen gegenüber als unwirksam erwiesen habe, gab Veranlassung, die Versuche im Herbst 1908 zu wiederholen. Dabei mußte ich mich durchaus überzeugen, daß die Versuche mit dem gleichen Trypanosomenstamm wie vorher, indes bei Benutzung eines neueren Atoxylpräparates vollkommen negativ, d. h. ganz im Sinne des Schillingschen Referates ausfielen. Nachdem inzwischen Wendelstadt (33) die gleichen Ergebnisse veröffentlicht hat und auch hier alle Wiederholungen mit ver-

schiedenen neueren Atoxylproben gleiche negative Resultate ergeben haben, kann ich mir auch jetzt noch keine Rechenschaft geben, worauf die ersten Heilerfolge mit dem alten Atoxylpräparat beruht haben. Die fortgesetzten Bemühungen der chemischen Industrie, das Atoxyl in immer vollkommenerer Reinheit darzustellen, legten die Vermutung nahe, daß ein Gehalt an arseniger Säure in dem alten Präparat die Ursache gewesen sein könne. Die daraufhin angestellten Versuche mit der „neuen Lösung" von Löffler und Rühs (1,0 g arsenige Säure plus 10,0 g Normalnatronlauge plus 10,0 g Normalsalzsäure plus 980,0 g destilliertes Wasser) gaben für diese Annahme indes keine Anhaltspunkte, indem sich eine intraperitoneale Injektion von 0,001 g arseniger Säure bei Ratten von 120—150 g Gewicht als vollkommen wirkungslos gegenüber der Infektion mit Rattentrypanosomen erwies.

In der jetzigen Form ist mithin die Verwendung von Atoxyl zur kombinierten Immunisierung gegen Rattentrypanosomen nicht geeignet.

Nachdem dann die außerordentlich vollkommene Wirkung des Arsenophenylglycin gegenüber der Trypanosomiasis der Ratten festgestellt war (34), das bekanntlich bei gleichzeitiger Einspritzung von Trypanosomenblut und Präparat eine sichere Unterdrückung der Infektion gewährleistet, wurde auch die Möglichkeit einer Immunisierung mittels dieser Präventivbehandlung genauer untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß eine einmalige derartige Behandlung für eine vollkommene Immunisierung in den meisten Fällen zwar nicht ausreicht, in einigen wenigen Fällen indes waren die behandelten Tiere doch vollkommen immun geworden, und in einer gewissen Zahl von weiteren Fällen konnte eine deutliche Abschwächung und Verkürzung im Verlauf der zweiten Infektion, also ein ziemlich erheblicher Grad von Immunität festgestellt werden.

Als Ergebnis dieser chemo-therapeutischen Versuche kann mithin der Satz gelten, daß eine kombinierte Immunisierung gegen Rattentrypanosomen mit Hilfe von Arsenophenylglycin im Bereich der Möglichkeit liegt und jedenfalls begründetere Aussicht auf Erfolg bietet als die Kombination von virulenten Trypanosomen mit spezifischem Immunserum.

Das Ziel einer solchen Immunisierung liegt ja nicht nur im Bedürfnis der praktischen Seuchenbekämpfung, sondern in der Herstellung hochwertiger Immunsera, um mit Hilfe spezifischer Immunitätsreaktionen die Differenzierung der verschiedenen Trypanosomenarten auf zuverlässigere Grundlagen zu stellen, als es jetzt möglich ist.

Die Versuche mit hochwertigen Immunseren, die durch Behandlung mit Rattentrypanosomen von Ratten gewonnen werden, zeigen in jeder Beziehung, daß die Spezifität der Immunitätsreaktionen auch hier sehr vollkommen zum Ausdruck kommt. Man bedient sich bei derartigen Versuchen am besten des Tierversuches in der Anordnung der Pfeifferschen Reaktion.

Spritzt man den Ratten eine Mischung von Trypanosomenblut und Immunserum in die Bauchhöhle, so bleibt die Blutinfektion aus, nimmt man statt des Immunserums normales Rattenserum, dann geht die Infektion an. Das gleiche ist der Fall, wenn man ein Immunserum, das gegen Rattentrypanosomen in sehr kleinen Dosen schützt (0,05 ccm), in zehn- und mehrfach größerer Quantität bei Nagana- oder Dourinetrypanosomen anwendet: Die Infektion wird dann durch das Rattentrypanosomen-Immun-

serum nicht im geringsten beeinflußt. Auch die folgende Versuchsanordnung zeigt das deutlich.

Immunisierung gegen Nagana mit Rattentrypanosomen.

Ratte a	Ratte b	Ratte c
22. 4. Trypanosoma lewisi	5. 6. Trypanosoma lewisi	12. 3. Trypanosoma lewisi
1. 5. Atoxyl 0,04 ccm	6. 6. Atoxyl 0,03 ccm	7. 4. 1,5 ccm Trypanosoma lewisi
8. 5. 2,0 ccm Trypanosoma lewisi	9. 6. Atoxyl 0,03 ccm	11. 4. und 16. 4. ebenso
22. 5. 2,0 ccm Trypanosoma lewisi	15. 7. 2,0 ccm Trypanosoma lewisi	22. 4., 2. 5., 11. 5. 3,0 ccm Trypanosoma lewisi
30. 5. 3,0 ccm Trypanosoma lewisi	6. 8. Trypanosoma brucei	27. 5. 3,0 ccm Trypanosoma lewisi
16. 7. 3,0 ccm Trypanosoma lewisi	10. 8. ++	16. 7. 3,0 ccm Trypanosoma lewisi
6. 8. 0,3 ccm Trypanosoma brucei	12. 8. +++	27. 7. Trypanosoma brucei
10. 8. +++ 13. 8. †	21. 8. †	30. 7. ++ 10. 8. †

Bei Ratte b ist, wie man sieht, der Infektionsverlauf wohl etwas verzögert, indes bei Ratte a und c, die viel intensiver vorbehandelt worden sind, ist ein wesentlicher Unterschied gegenüber gleichzeitig infizierten unbehandelten Kontrolltieren nicht zu erkennen gewesen.

Es lassen sich also Ratten mittels Rattentrypanosomen gegen an Ratten angepaßte Nagana- oder Dourinetrypanosomen nicht immunisieren.

Auch bei Umkehrung der Versuchsbedingungen erhält man das gleiche Resultat. Es ist oben bereits gesagt worden, daß Naganaratten, die mittels Atoxyl geheilt waren, keine Resistenz gegen eine spätere Naganainfektion gewinnen. Spritzt man solchen wiederholt infizierten und geheilten Ratten Rattentrypanosomenblut ein, dann erweisen sie sich auch gegen dieses als ganz normal empfänglich.

Im Reagenzglas läßt sich die Spezifität der Immunitätsreaktionen durch die Agglomeration nachweisen. Was das Wesen dieser Reaktion und ihre besonderen Eigentümlichkeiten gegenüber der Bakterienagglutination anlangt, so habe ich darüber in einer früheren Arbeit berichtet (17). Es wurde u. a. festgestellt, daß die spezifische Agglomeration der Trypanosomen (und Spirochaeten) an die Vitalität und Bewegungsmöglichkeit dieser Parasiten gebunden ist und mit unbeweglichen oder abgetöteten Parasiten nicht zustande kommt, daß sie selbst auch keine Paralysierung der agglomerierten Trypanosomen bedingt, indem einmal häufig eine Wiederauflösung der Agglomerate in einzelne bewegliche Individuen beobachtet wird und zweitens bei Ausschaltung von Komplement niemals eine Paralyse, wohl aber eine Agglomeration erfolgt: die Paralysierung beruht also auf einer komplexen Antikörperwirkung, die Agglomeration dagegen nicht. Die spezifische Agglomeration tritt im Peritoneum von Ratten und Meerschweinchen ebenso schön auf wie im Reagenzglas und ist anscheinend mit einer Präzipitatbildung nicht vergesellschaftet. Das sind alles Eigentümlichkeiten, die der

Agglomeration der Trypanosomen und Spirochaeten eine besondere Stellung gegenüber der Agglutination der beweglichen bakteriellen Lebewesen verschaffen.

Sera von Ratten, die gegen Trypanosoma lewisi immunisiert sind, agglomerieren die Trypanosomen aus Nagana- oder Dourinerattenblut im allgemeinen gar nicht oder nur in konzentriertem Zustande, während die homologen Trypanosomen auch in Verdünnungen dieser Sera Knäuel bilden. Leider lassen sich aber sehr wirksame agglomerierende Sera bei Ratten wenigstens anscheinend nicht erzeugen. Francis sagt darüber folgendes: „Einzelne Immunsera agglutinieren in Verdünnungen über 1 : 1 überhaupt nicht. Ein Agglutinationstiter von 1 : 5 oder 1 : 10 ist das Gewöhnliche. Eine meiner Ratten zeigte typische Agglutination noch bei 1 : 200".

Ich selbst habe eine Agglomeration bis 1 : 100 nur in einem einzigen Falle gesehen, und zwar bei einer Ratte, der nach dem erstmaligen Ablauf der Infektion im ganzen 25 ccm Blut mit reichlichen Trypanosomen im Laufe von $2\frac{1}{2}$ Monaten intraperitoneal eingespritzt worden waren.

Auch die Haltbarkeit dieser spezifisch agglomerierenden Antikörper bei Aufbewahrung der Sera im Eisschrank ohne Zusatz eines Konservierungsmittels scheint nicht so gut zu sein, wie bei bakteriellen agglutinierenden Seren. Infolge dieses Umstandes und der geringen Wertigkeit wird die diagnostische Verwertbarkeit der spezifischen Agglomeration bei Trypanosomen einigermaßen beeinträchtigt.

Statt der quantitativen Agglomeration ist der Tierversuch mit quantitativen Abstufungen des Immunserums wie beim Pfeifferschen Versuch für differentialdiagnostische Zwecke besser geeignet. Beweisend ist bei diesem letzteren aber nicht, wie beim Pfeifferschen Versuch, der Befund in der Bauchhöhle, sondern die Blutuntersuchung; denn wie oben besprochen, geht die Vernichtung der Trypanosomen in der Bauchhöhle oft nur langsam von statten, so daß bei Verwendung von schwach wirksamen Seren oder stärkeren Verdünnungen eines Serums noch tagelang Trypanosomen im Peritoneum nachweisbar sind, obgleich das Ausbleiben der Blutinfektion die vorhandene Schutzkraft des Serums deutlich erweist.

Durch einstündige Erwärmung auf 58° wird die Agglomerationskraft eines Immunserums bei Rattentrypanosomiasis nicht merklich beeinträchtigt; darin stimmen meine Erfahrungen mit den Angaben von Francis sowie Laveran und Mesnil überein.

Wie bereits in der oben angezogenen Arbeit über die spezifische Agglomeration bei Trypanosomen mitgeteilt worden ist, konnten bei gut agglomerierenden und überhaupt bei hochwertigen Immunseren spezifische Präzipitationserscheinungen gegenüber Extrakten aus Trypanosomenhaltigem Rattenblut von mir nicht nachgewiesen werden. Das gleiche war bei Spirochaeteninfektionen (Rekurrens und Spirochaetenseptikämie der Hühner) der Fall. Bei Rekurrens sind diese Befunde inzwischen von R. Strong bestätigt worden (35). Bei anderen Trypanosomen sind Präzipitate bisher nur ausnahmsweise nachgewiesen worden, und zwar von Mayer (22) bei einem Naganahunde und von Uhlenhuth und Woithe (31) bei einem Atoxyl-Dourinehund und bei einem Atoxyl-Dourinepferde. Indes scheint es sich nach der Auffassung der letztgenannten Autoren hier nicht um eine spezifische Reaktion zu handeln, da sie auch durch Überschichten des Serums mit destilliertem Wasser auftrat, wobei auch normale Sera Ringbildung zeigten.

Die agglomerierenden Eigenschaften des Rattentrypanosomenserums kommen bekanntlich nicht erst nach Ablauf der Infektion zustande, sondern man kann sie bereits in der letzten Zeit vor dem Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut daran wahrnehmen, daß die Flagellaten bei der mikroskopischen Blutuntersuchung häufig in Form von den für die Agglomeration typischen Sternen und Knäueln angetroffen werden. Diese Erscheinungen hat Francis mit dem Ausdruck „Autoagglutination" bezeichnet. Meiner Meinung nach können dadurch irrtümliche Vorstellungen erweckt werden, indem nach der gebräuchlichen Nomenklatur unter diesem Ausdrucke zu verstehen wäre, daß das Serum der infizierten Tiere nur die eigenen Trypanosomen, aber nicht gleichartige Trypanosomen aus dem Blut anderer Ratten agglomeriert. Das ist aber durchaus nicht der Fall. Wenn eine Ratte sich in dem Stadium der Infektion befindet, daß die Trypanosomen des eigenen Blutes agglomeriert werden, dann zeigt das Serum ganz allgemein auf alle Rattentrypanosomen agglomerierende Wirkung, also auch auf solche aus dem Blute anderer Ratten. Es handelt sich hier nicht um eine spezifische Beziehung des Serums zu den eigenen Trypanosomen, durch die der Ausdruck „Autoagglutination" gerechtfertigt würde, sondern die Agglomeration ist nur ein Zeichen der beginnenden Antikörperbildung bei noch bestehender Infektion. Was die Erscheinung überhaupt auffällig macht, ist hauptsächlich der Umstand, daß man die Agglomeration im Tierkörper auftreten sieht, was bei der Agglutination der Bakterien in der Regel nicht der Fall ist.

Was nun den Mechanismus der Immunität anlangt, so steht im Vordergrund die von Laveran und Mesnil aufgestellte Theorie, daß die Beseitigung der Trypanosomen aus dem Blut und die spezifische Immunität auf einer durch das Immunserum angeregten Phagocytose der weißen Blutkörperchen, speziell der einkernigen, beruhe. Die beiden Autoren sind der Ansicht, daß durch die Säfte des immunen Organismus eine Stimulation der Leukozyten erfolge. Auch in einer neueren Arbeit von Mesnil und Brimont (36) wird diese Ansicht durch Versuche mit Seren von Nagana- und Surratieren an Mäusen begründet. Sie stützen ihren Beweis hauptsächlich darauf, daß das Immunserum die Trypanosomen im Reagenzglas nicht sichtbar schädigt, sondern erst nach der Einspritzung der Mischung in den Tierkörper in Wirksamkeit tritt, indem es eine primäre Phagocytose beweglicher und äußerlich unversehrter Trypanosomen verursacht. Die Phagocytose wurde in frischen und gefärbten Präparaten aus dem Bauchhöhlenexsudat intraperitoneal mit Trypanosomen- und Immunserum gespritzter Mäuse in verschiedenen Stadien beobachtet.

Die entsprechenden Untersuchungen von Sauerbeck (37) haben demgegenüber ergeben, daß Phagocytose gewöhnlich nur dann beobachtet wird, wenn die Trypanosomen bereits außerhalb der weißen Blutkörperchen durch das Immunserum stark geschädigt und deformiert sind. Das Vorkommen von wohlerhaltenen Trypanosomen in den weißen Blutkörperchen bezeichnet Sauerbeck als seltene Ausnahme. Uhlenhuth und Woithe sagen darüber folgendes: „Wir haben nie beobachten können, daß mit dem vermehrten Auftreten von Leukocyten eine Phagocytose in Gang gekommen wäre. Wie bereits früher von uns hervorgehoben wurde, spielt die Phagocytose bei der Abtötung der Trypanosomen (die sich im allgemeinen auflösen wie Zuckerstücke im Wasser)

kaum eine Rolle. Es mag ja sein, daß gelegentlich Überreste der toten Parasitenleiber von den Freßzellen aufgenommen werden, in der Regel erfolgte jedoch eine glatte Auflösung ohne Zurückbleiben von Fragmenten.

Die agglomerierenden Eigenschaften des Trypanosomen-Immunserums stehen nach Mesnil und Brimont mit der Schutzkraft des Serums in keinem engen Zusammenhang.

In dem letztgenannten Punkte stimmen meine Untersuchungen, die sich nur auf Trypanosoma lewisi beziehen, mit den Ergebnissen der französischen Autoren vollkommen überein. Bekanntlich wird diese Auffassung jetzt auch bezüglich der Agglutinine bakterieller Immunsera ziemlich allgemein geteilt. Während aber hier der Agglutinationstiter als ein annähernder Gradmesser der Wertigkeit eines Immunserums gilt, habe ich mich bei den Immunseren der Rattentrypanosomiasis davon nicht überzeugen können. Man findet bei solchen Untersuchungen häufig Sera, die nach nur einmaliger Einspritzung mit Rattentrypanosomen bereits kräftig agglomerieren und dabei geringe Schutzkraft haben; anderseits kann ich auch die Beobachtung von Mesnil und Brimont insofern ergänzen, daß Sera von häufig (6—8 Mal) mit Rattentrypanosomen vorbehandelten Ratten, die in sehr kleinen Dosen (0,05—0,1 ccm) gegen 1,0 ccm trypanosomenhaltigen Rattenblutes vollkommen schützten, wenig oder gar nicht agglomerierten.

Auch in einem weiteren Punkte decken sich meine Ergebnisse mit denen von Mesnil und Brimont, nämlich darin, daß die Schutzkraft eines Immunserums durch einhalb- bis einstündiges Erwärmen auf 58° nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Durch quantitative vergleichende Untersuchungen mit solchen Seren hat sich wenigstens die früher von Laveran und Mesnil gemachte Angabe, daß beim Erwärmen ein Teil der Schutzkraft solcher Immunsera verloren ginge, nicht erweisen lassen. Ob eine solche Beeinträchtigung bei einer Erwärmung über 58° hinaus (bis 64°) eintritt, darüber habe ich keine Erfahrungen.

Antikörper, die erfahrungsgemäß bei der Erwärmung auf 58° zugrunde gehen, z. B. Opsonine, können mithin bei der Schutzwirkung dieser Immunsera nicht wesentlich beteiligt sein. Falls also die Immunitätseigenschaften tatsächlich auf Phagocytose beruhen, dann können nur thermostabile phagocytosebefördernde Substanzen (Tropine) in Frage kommen.

Phagocytoseversuche im Reagenzglas lassen sich mit Parasiten, die außerhalb des Tierkörpers eine so rasche Beeinträchtigung ihrer Vitalität erfahren, schlecht mit der nötigen Sicherheit durchführen, wie ich mich seinerzeit auch bei den gleichen Untersuchungen mit Rekurrenzspirochaeten zu überzeugen Gelegenheit hatte. Die Methode der Wahl ist bei Trypanosomen zweifellos der Versuch in der Bauchhöhle von Tieren, und zwar am besten von solchen Tieren, an die das zu untersuchende Virus angepaßt ist.

Ich selbst habe also Ratten benutzt, und zwar einerseits normale Ratten, denen eine Mischung von trypanosomenhaltigem Blut und Immunserum intraperitoneal eingespritzt wurde, und anderseits Ratten, die durch einmaliges Überstehen einer experimentellen Infektion oder durch öftere Vorbehandlung immunisiert worden waren. In

verschiedenen Zeiträumen wurde diesen Tieren mittels Kapillaren das Exsudat aus der Bauchhöhle entnommen und im frischen Präparat sowie im nach Giemsa gefärbten Trockenpräparat untersucht.

Die Untersuchung im frischen Präparat ist besonders notwendig, da sie allein geeignet ist, Aufschluß darüber zu geben, ob die weißen Blutkörperchen unter diesen Bedingungen imstande sind, bewegliche unversehrte Trypanosomen aufzufressen und im Innern zu verdauen.

Man kann in solchen Präparaten sehr häufig sehen, daß lebhaft bewegliche Trypanosomen an den weißen Blutkörperchen haften bleiben, gewöhnlich mit dem geißelfreien Ende, und sich gelegentlich auch wie ein Strahlenkranz zu 4—6 um einen Leukozyten herum gruppieren. Man beobachtet dieses Festhaften der Trypanosomen aber auch an irgend welchen festen Partikelchen, die zufällig auf dem Deckgläschen oder Objektträger des Präparates liegen, oder an Luftbläschen, die sich bei der Anfertigung des Präparates bilden. Offenbar handelt es sich also hier nicht, wie die französischen Autoren annehmen, um eine spezifische Affinität der Flagellaten zu den weißen Blutkörperchen. Da man solche Bilder auch in der Bauchhöhle normaler Ratten zu sehen bekommt, möchte ich auch nicht glauben, daß die Immunität bei dieser Erscheinung eine wesentliche Rolle spielt. Wohl zu unterscheiden von der eben geschilderten Art der Gruppierung sind natürlich die ebenfalls in der Bauchhöhle immuner Ratten auftretenden Agglomerationssterne, in deren Zentrum man gelegentlich auch weiße oder rote Blutkörperchen findet, die mehr zufällig und passiv gerade dorthin geraten sind.

Daß solche an der Oberfläche eines Leukozyten haftende Trypanosomen nach und nach in die Plasmasubstanz aufgenommen werden, wie es Laveran und Mesnil angeben, habe ich im lebenden Präparat ebensowenig wie Sauerbeck verfolgen können. Ein einziges Mal konnte in zahlreichen daraufhin untersuchten Präparaten ein bewegliches, noch gut erkennbares Trypanosoma ganz im Innern eines weißen Blutkörperchens ohne allen Zweifel festgestellt werden. Das Aussehen eines derartigen, mit beweglichem Inhalt versehenen weißen Blutkörperchens ist so charakteristisch, daß ein Übersehen fast unmöglich ist. In Anbetracht dessen, daß mir ähnliche Bilder nicht häufiger zu Gesicht gekommen sind, möchte ich daher annehmen, daß die primäre Phagocytose lebender Trypanosomen eine Ausnahmeerscheinung ist, die den normalen Bedingungen der Immunität ganz gewiß nicht entsprechen kann.

Die Untersuchung der nach Giemsa gefärbten Trockenpräparate hat keine Anhaltspunkte dafür geliefert, daß diese Anschauung unrichtig wäre. Es zeigte sich hier zunächst, daß die weißen Blutkörperchen des Peritonealexsudates in den verschiedenen Zeitabständen nach der Infektion ganz gleichmäßig zum größten Teil aus einkernigen weißen Blutkörperchen bestehen und sich dadurch von Peritonealflüssigkeiten nach Einspritzung bakterieller Mikroben ganz auffällig unterscheiden. Leider läßt sich nach der Art der Versuchsanordnung aber nicht entscheiden, ob diese überwiegende Zufuhr von einkernigen Leukozyten als Reaktion auf die eingespritzten Trypanosomen oder auf die Blutkörperchen des infizierten Blutes aufzufassen ist; auch diese letzteren fallen in der Bauchhöhle der Ratten der Phagocytose anheim und bekanntlich findet die

Phagocytose der roten Blutkörperchen ebenfalls hauptsächlich in einkernigen Leukozyten statt.

Häufig zeigen die Leukocyten in den gefärbten Präparaten bei diesen Versuchen eine aufgetriebene wabige Struktur und im Innern mehr oder weniger große unregelmäßige Körperchen, die sich nach Giemsa rot färben und mit Wahrscheinlichkeit als Überreste von gefressenen Trypanosomen aufgefaßt werden können. In der normalen Form erhaltene und färberisch darstellbare Trypanosomen sind mir in den zahlreichen Präparaten, die daraufhin durchmustert wurden, niemals zu Gesicht gekommen. Falls die primäre Phagozytose in der Tat eine so ausschlaggebende Bedeutung für die Immunität besitzt, müßte man doch gelegentlich wenigstens ein frisch aufgenommenes, noch unverdautes, gut erkennbares Trypanosoma in den Leukocyten antreffen.

Nun muß man allerdings berücksichtigen, daß die Trypanosomen Gebilde sind, die unter der Antrocknung ziemlich stark leiden. Es ließe sich also der Einwand rechtfertigen, daß die gefressenen und dadurch bereits geschädigten Trypanosomen bei der Anfertigung der Trockenpräparate in größerem Umfange zerfallen und ihre färberische Darstellbarkeit verlieren, als die gleichzeitig in den Präparaten vorhandenen extrazellulär gelegenen Trypanosomen, bei denen man deutlich die Konturen, Kern, Blepharoplast und Randfaden dargestellt findet. Die Annahme, daß damit das negative Ergebnis meiner Befunde ausreichend erklärt sei, wäre aber sicher unzutreffend; denn selbst wenn sich die gefressenen Trypanosomen mit Hilfe der nach Giemsa gefärbten Trockenpräparate nicht darstellen lassen sollten, so müßte man doch auch Übergangsstadien der Phagocytose finden, bei denen erst zum Teil aufgenommene erkennbare Trypanosomen im Präparat nachweisbar sein müßten. Auch solche habe ich nie mit Zuverlässigkeit nachweisen können, selbst in der Bauchhöhle hoch immunisierter Ratten, wo die Beseitigung der Parasiten im Laufe einer halben Stunde beendet war, also gleichzeitig massenhaft Phagocytosebilder vorhanden gewesen sein müßten.

Auf Grund aller erwähnten Beobachtungen muß ich mich demnach auf den Standpunkt stellen, daß der Beweis für die Annahme von Laveran und Mesnil, die Phagocytose besäße bei der Immunität der Trypanosomen eine primäre Bedeutung, noch nicht erbracht ist. Meiner Ansicht nach ist die Phagocytose lebender Trypanosomen eine exquisit seltene Ausnahme, deren Ursache noch unbekannt ist, während der Regel nach die Phagocytose eine sekundäre Rolle spielt, indem sie die extrazellulär abgetöteten Trypanosomen und deren Zerfallsprodukte zu beseitigen imstande ist.

Eine solche extrazelluläre Abtötung von Trypanosomen in der Bauchhöhle immuner Ratten läßt sich in der Tat nachweisen, allerdings nur unter besonders geeigneten Bedingungen. Untersucht man nämlich das Peritonealexsudat immuner Ratten, die vorher nur eine einmalige Infektion mit Trypanosomen überstanden haben, oder das normaler Ratten, die mit einer Mischung von schwach wirksamem Immunserum und Trypanosomenblut eingespritzt werden, so kann man eben nur aus der allmählichen Abnahme der Parasitenzahl im Peritoneum und dem Ausbleiben der Blutinfektion auf eine vorhandene Immunität schließen. Die damit einhergehende

Phagocytose von roten Blutkörperchen und Trypanosomenresten gibt über den Mechanismus der Immunität keinen deutlichen Aufschluß. Man muß dabei berücksichtigen, daß die Vernichtung der Parasiten nur sehr allmählich von statten geht und sich oft 3—4 Tage hinzieht, so daß mithin die Möglichkeit, veränderte Parasiten im mikroskopischen Präparat zu Gesicht zu bekommen, eine relativ geringe ist. Man kann sogar unter solchen Umständen allerhand Teilungsstadien von Trypanosomen in nicht geringer Anzahl vorfinden und gewinnt daraus eher den Eindruck, daß antiparasitäre Wirkungen in der Bauchhöhle überhaupt nicht äußerlich zum Ausdruck kommen.

Das ist aber ganz anders, wenn man häufig vorbehandelte Immunratten oder stark wirkende Immunsera in großen Dosen zum Versuch benutzt. Man findet dann neben den oben erwähnten Bildern ganz regelmäßig extrazellulär liegende Trypanosomen, deren Plasmaleib sich schlecht färbt, oder bereits im Zerfall begriffen ist, so daß sich die ursprüngliche Form nur durch einen bläulichen Schatten neben dem gut gefärbten Randfaden mit Blepharoplast bemerkbar macht, der den ebenfalls noch deutlichen Kern umgibt. Als weiter fortgeschrittene Stadien dieses Zerfalls sind offenbar Bilder anzusehen, die neben dem Randfaden mit Blepharoplast einen mehr oder weniger veränderten und durch die Präparation dislozierten Kern zeigen, und schließlich Stadien, bei denen von dem urprünglichen Trypanosoma nur noch der Randfaden mit oder ohne Blepharoplast vorhanden ist. Je rascher der Prozeß in der Bauchhöhle vor sich gegangen ist, desto größer ist die Zahl dieser Rudimente, und man bekommt dann ähnliche Bilder, wie sie Wendelstadt und Fellmer (38) nach der Einspritzung von Brillantgrün im Blut gesehen und in Fig. 7 u. 8 ihrer Arbeit abgebildet haben. Es ist ja wohl denkbar, daß solche und ähnliche Veränderungen des Trypanosomenleibes gelegentlich erst bei der Anfertigung des Trockenpräparates entstehen. Aber die große Anzahl solcher Zerfallsprodukte unter den gewählten Versuchsbedingungen spricht doch wohl dafür, daß hier lytische Eigenschaften des immunen Organismus eine Rolle spielen. Gelegentlich kann man gegen das Ende der erstmaligen Infektion hin auch im Blut der Ratten solche Zerfallsprodukte antreffen, so daß ich glaube, auch hier finden lytische Vorgänge statt, die innerhalb der Blutbahn zur allmählichen Beseitigung der Parasiten führen. Das spärliche Vorhandensein ist hier nur bei weitem nicht so überzeugend, wie beim Versuch in der Bauchhöhle hoch immunisierter Tiere. Daß der lymphatische Apparat, insbesondere die Milz, bei der Immunisierung gegen Trypanosomen keine wesentliche Rolle spielt, ist auch durch die Versuche von Laveran und Thiroux (39), sowie Sauerbeck sehr wahrscheinlich geworden. Offenbar ist der Träger der Immunität das Blut und die Organsäfte, und hier wiederum haben sich in meinen Versuchen nur mikrobizide bezw. lytische Immunkörper als sicher vorhanden nachweisen lassen, während Tropine anscheinend keine erhebliche Bedeutung zu beanspruchen haben.

Daß in der Pathologie der Trypanosomen Toxine und Antitoxine Bedeutung haben, ist bei den exquisit pathogenen Trypanosomen durch mancherlei Versuche wahrscheinlich gemacht (44). Bei den im ganzen wenig pathogenen Rattentrypanosomen dürfte das aber, wie Laveran und Mesnil mit Recht betonen, kaum anzunehmen sein.

Als praktisch und theoretisch von größtem Interesse war schließlich noch die Frage zu untersuchen, wie sich das Rattentrypanosomen-Immunserum als ein nach den obigen Darlegungen im wesentlichen lytisches Serum im Heilverfahren verhält. Auch darüber liegen bereits Versuche von Rabinowitsch-Kempner, Laveran-Mesnil und Francis vor. Sie konnten Ratten noch 24 Stunden nach der Infektion durch Einspritzen großer Dosen Immunserum schützen. Laveran und Mesnil haben auch am 8., 13., 34. und 51. Tage nach der Infektion Heilversuche mit großen Dosen Immunserum gemacht, d. h. in einem Stadium, in dem die Infektion bereits auf dem Höhepunkt angelangt war. Die Resultate dabei waren nicht eindeutig: In einzelnen Fällen verschwanden die Trypanosomen im Laufe einiger Tage, in anderen trat vorübergehend eine Verminderung der Parasitenzahl ein, und in der Hälfte der Fälle war überhaupt keine Wirkung festzustellen.

Im Hinblick darauf, daß bei Schutzversuchen nur hochwertige Immunsera eine in die Augen springende Wirksamkeit erkennen ließen, habe ich mir von der Verwendung solcher Sera auch im Heilverfahren eindeutige Resultate versprechen zu können geglaubt, und deshalb solche Sera, nachdem sie sich im Schutzversuch als mindestens in der Dosis 0,1 ccm auf 1,0 ccm Trypanosomenblut wirksam gezeigt hatten, Ratten intravenös in Mengen von 2—5 ccm eingespritzt, die zahlreiche Parasiten im Blut beherbergten. Wider Erwarten konnte dabei in keinem Falle auch nur eine Spur einer einwandfreien Heilwirkung festgestellt werden; die Zahl der Parasiten nahm nicht wesentlich ab und der weitere Infektionsverlauf gestaltete sich nicht erheblich anders als bei den Kontrolltieren. Es scheint mithin, daß die Heilwirkung des Trypanosomen-Immunserums, obwohl hier Endotoxine aller Wahrscheinlichkeit nicht im Spiel sind, zeitlich ebenso beschränkt ist, wie man es bei den bakteriellen Immunseren mit vornehmlich lytischem Charakter bereits erfahren hat.

In einer früheren Arbeit (11) habe ich aus dem Umstande, daß die im wesentlichen ebenfalls lytischen Immunsera bei Rekurrens auch auf der Höhe der Infektion noch prompte Heilwirkung entfalten, den Schluß ziehen zu können geglaubt, daß diese Eigenschaft gegen eine Bakteriennatur und für Protozoencharakter der Spirochaeten sprächen. Nachdem ich mich jetzt überzeugt habe, daß auch bei zweifellosen Protozoen, wie den Trypanosomen, wirksame lytische Immunsera jede Heilwirkung vermissen lassen können, muß man dem von mir früher gezogenen Schluß eine Beweiskraft in dem angedeuteten Sinne wohl absprechen.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse der vorstehenden Abhandlung seien zum Schlusse kurz in folgenden Sätzen zusammengefaßt.

1. Es gelingt, Ratten durch die mechanisch unverletzte Oberhaut mit Trypanosoma lewisi zu infizieren, indem man trypanosomenhaltiges Blut auf die ungeschorene Bauchhaut aufträufelt und dort eintrocknen läßt.

2. Verfütterung von trypanosomenhaltigen Organen und Einträufelung von trypanosomenhaltigem Blut in die Augenbindehäute bei Verwendung des gleichen Trypanosomenstammes hat keine Blutinfektion zur Folge gehabt.

3. Das Zustandekommen einer Kontaktübertragung bei Trypanosomeninfektionen durch die Schleimhaut (Kohabitation) ist in erster Linie davon abhängig, daß bei dem infizierenden Partner eine blutende Verletzung eintritt, oder daß sonst die Trypanosomen an die Oberfläche und mit der Schleimhaut des gesunden Tieres in unmittelbare Berührung traten; eine Kontinuitätstrennung der gesunden Schleimhaut ist nicht notwendig. In zweiter Linie sind die Abwehrkräfte des Schleimhautsekretes für den Erfolg ausschlaggebend.

4. Trypanosomenrosetten mit nach dem Zentrum gerichteten Geißeln sind keine Agglomerate. Rosetten mit peripheriewärts gerichteten Geißeln kommen sowohl bei der Vermehrung als auch durch Agglomeration zustande.

5. Die experimentellen Ergebnisse haben bisher nicht den Nachweis führen lassen, daß die Rattenläuse länger als 3—5 Tage nach dem letzten Saugen als Überträger von Rattentrypanosomen wirken oder auf anderem Wege als durch direkte Inokulation der Trypanosomen infizieren können.

6. Die Übertragung von Naganatrypanosomen durch Hämatopinus ist nicht gelungen.

7. Im Vergleich zu Naganatrypanosomen, die auf Ratten gezüchtet sind, zeigen die Rattentrypanosomen eine erheblich bessere Anpassungsfähigkeit an den Organismus der Hämatopini.

8. Bei hungernden Läusen halten sich die Rattentrypanosomen länger im Magendarmkanal am Leben als bei solchen, die nachträglich an normalen Ratten Blut gesogen haben. In einzelnen Fällen ist in hungernden Läusen eine Vermehrung der Rattentrypanosomen als wahrscheinlich anzunehmen.

9. Innerhalb der Ratten erfolgt die Vermehrung der Trypanosomen in den lymphatischen Organsäften, u. a. im Peritoneum, leichter als im Blut und zwar nicht deshalb weil die Lymphe ein besserer Nährboden für sie ist, sondern weil er weniger Antikörper enthält als das Blut.

10. Die Rattentrypanosomen sind so spezifisch an die Ratten angepaßt, daß eine passagenartige Züchtung nicht einmal auf Mäusen mehr gelingt. Auch die Angabe, daß Meerschweinchen für Trypanosoma lewisi empfänglich seien, läßt sich in diesem Sinne nicht als erwiesen anerkennen.

11. Wenn auch unter natürlichen Bedingungen die Immunität der wilden Ratten gegen Trypanosoma lewisi keine echte sterilisierende Immunität, sondern eine sog. Toleranz sein sollte, so läßt sich experimentell eine zweifellose Immunitas sterilisans erzeugen.

12. Mit Hilfe der bei bakteriellen Immunisierungen gebräuchlichen Methoden mittels Einverleibung abgetöteter Parasiten hat sich keine Immunität gegen Rattentrypanosomen erzielen lassen.

13. Eine kombinierte Vorbehandlung mit virulenten Trypanosomen und hochwertigem spezifischem Immunserum, das diese Infektion vollkommen unterdrückt, hinterläßt in der Regel keine ausreichende Immunität.

14. Bei Rattentrypanosomen ist eine Immunisierung durch kombinierte Vorbehandlung mit virulenten Parasiten und einem chemo-therapeutischen Medikament (Arsenophenylglycin) möglich.

15. Die Immunität gegen Rattentrypanosomen ist spezifisch, da man Ratten weder gegen Nagana mit Hilfe von Rattentrypanosomen, noch umgekehrt gegen Rattentrypanosomen durch öftere Vorbehandlung mit Naganatrypanosomen und Atoxyl immunisieren kann.

16. Die Angabe von Laveran und Mesnil, daß die Trypanosomenimmunität auf einer primären Phagocytose lebender Trypanosomen durch die stimulierten Leukocyten beruhe, findet in den vorliegenden experimentellen Studien keine Stütze. Der Regel nach hat vielmehr die Phagocytose hier eine mehr sekundäre Funktion.

17. Der Mechanismus der Trypanosomenimmunität beruht wahrscheinlich neben einer noch nicht zur Genüge erforschten antitoxischen Wirkung (bei den pathogenen Trypanosomen) auf den trypanoziden bezw. trypanolytischen Fähigkeiten des Immunserums.

18. Der Agglomerationstiter ist beim Immunserum gegen Rattentrypanosomen kein brauchbarer Gradmesser der Wertigkeit eines Serums.

19. Immunsera, die im Schutzversuch hochwertige Eigenschaften erwiesen, haben sich im Heilversuch als gänzlich unwirksam gezeigt.

Groß-Lichterfelde, im März 1909.

Literaturverzeichnis.

1. Rabinowitsch, L. und Kempner, W., Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanosomen. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 30, 1899, S. 251.

2. Laveran et Mesnil, Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.

3. v. Wasielewski und Senn, Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 33, 1900, S. 444.

4. Francis, An experimental investigation of Trypanosoma lewisi. Hyg. Lab. Publ. health and marine hosp. serv. U. St. Bull. 11. Washington 1903.

5. Jürgens, Beiträge zur Biologie der Rattentrypanosomen. Arch. f. Hygiene, Bd. 42, 1902, S. 265.

6. v. Prowazek, Studien über Säugetiertrypanosomen. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 22, S. 351.

7. Moore, J. E. Salvin, Breinl, A. and Hindle, Edw., The life history of Trypanosoma lewisi. Ann. of Trop. med. and paras. Vol. 2, 1908, Nr. 3.

8. Yakimoff und Nadeshda Schiller, Zur Trypanosomeninfektion durch die Schleimhaut des Verdauungstraktes. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 43, 1907, S. 694.

9. Uhlenhuth, Hübener und Woithe, Experimentelle Untersuchungen über Dourine mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 27, 1907.

10. Kudicke, Zur Ätiologie der Schlafkrankheit. Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. 12, 1908.

11. Manteufel, Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Rekurrensspirochaeten und ihrer Immunsera. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 27, 1907.

12. Bohne, A., Ein Fall von febris recurrens americana. Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. 11, 1908.

13. Bruce, D. and Batemann, H. R., Have Trypanosomes an ultramicoscopical stage in their life-history. Proc. royal soc. B. t. 80, 1908, S. 394.

14. Novy and Mc Neal, On the cultivation of trypanosoma brucei. Journ. of infect. diseases, Bd. 1, 1904.

15. Moore and Breinl, The cytology of the Trypanosomes. I. Annals trop. med. Vol. I. 1908.

16. Schneider et Buffard, Le trypanosoma de la dourine (Mal de coit). Arch. de parasit., Bd. III, 1900.

17. Manteufel, Untersuchungen über spezifische Agglomeration und Komplementbindung bei Trypanosomen und Spirochaeten. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 28, 1908.

18. Mc Neal, Ward, The life history of trypanosoma lewisi and brucei. Journ. of infect. diseases, Bd. 1, 1904, S. 517.

19. Martini, E., Vergleichende Beobachtungen über Bau und Entwicklung der Tsetse- und Rattentrypanosomen. Festschr. z. 60. Geburtstage von R. Koch, 1904.

20. Rabinowitsch, L., und Kempner, W., Die Trypanosomen in der Menschen- und Tierpathologie sowie vergleichende Trypanosomenuntersuchungen. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903, S. 804.

21. Sivori und Lecler, Le surra américain ou mal de Cadéras. Ann. del minist. de agricult. Sect. de zootechn. Buenos Ayres, Bd. 1, 1902.

22. Nocht und Mayer, Trypanosomen als Krankheitserreger. Handb. d. path. Mikroorg. von Kolle-Wassermann. Ergänzungsband 1906.

23. Manteufel, Diskussionsbemerkung. Bericht über den intern. Kongreß f. Hyg. u. Demogr. Berlin, 1907, Bd. IV.

24. Derselbe, Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie des europ. Rückfallfiebers. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 29, 1908 und Zentralbl. f. Bakt. Referate. Bd. 42.

25. Minchin, Gray and Tulloch, Glossina palpalis in its relation to trypanosoma Gambiense and other trypanosomes. Proc. royal soc. t. 78, 1906.

26. Verjbitski, D. T., The part played by insects in the epidemiology of plague. Reports on plague investigations in India. Journ. of Hygiene, Vol. 8, 1908.

27. Moore and Breinl, The cytology of the Trypanosomes. Ann. of trop. med. and paras. Bd. 1, 1907.

28. Fusco Gennaro, Osservazioni sulla forme involutive e sulla culture del tripanosome (Brucei). La riforma medica 1908, Nr. 15.

29. Lühe, M., Die im Blut parasitierenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. Menzes Handb. d. Tropenkrankh., Bd. III, 1906.

30. Schilling, C., Chemotherapeutische Versuche bei Trypanosomeninfektionen. Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. 13, 1909.

31. Uhlenhuth und Woithe, Experimentelle Untersuchungen über Dourine mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. Nachtrag und Schlußbericht. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 29, H. 2.

32. Schilling, C., Die neueren Fortschritte auf dem Gebiete der pathogenen Protozoen. Zentralbl. f. Bakt. Referate Bd. 42.

33. Wendelstadt, Über Versuche mit neuen Arsenverbindungen gegen Trypanosomen und dabei beobachtete Erscheinungen. Berl. klin. Wochenschr. 1908, Bd. 51, S. 2263.

34. Uhlenhuth und Manteufel, Chemotherapeutische Versuche mit einigen neueren Atoxylpräparaten bei Spirochaetenkrankheiten usw. Zeitschr. f. Immunitätsforschung und exp. Therapie, Bd. 1, Dez. 1908.

35. Strong, R., The diagnosis of african tick fever from the examination of the blood. The Philipp. journ. of science B. Vol. III, Nr. 3, S. 131.

36. Mesnil et Brimont, Sur les propriétés préventives du serum des animaux trypanosomiés. C. rend. soc. biol. t. 65, 1908, S. 77.

37. Sauerbeck, Beitrag zur Histologie der experimentellen Trypanosomiasis. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 52, 1905, S. 31.

38. Wendelstadt und Fellmer, Über die Einwirkung von Brillantgrün auf Nagana-Trypanosomen. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 52, 1905, S. 263.

39. Laveran et Thiroux, Sur le rôle de la rate dans les trypanosomiases. C. rend. acad. sc. 1907, S. 14 u. 295.

40. Koch, R., Über die Trypanosomenkrankheiten. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 47.

41. Möllers, B., Beitrag zur Epidemiologie der Trypanosomenkrankheiten. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 62, 1909.

42. Uhlenhuth und Weidanz, Technik und Methodik des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens usw. Handb. der Technik und Methodik der Immunitätsforschung (Kraus-Levaditi), Bd. II, S. 756.

43. Kleine, Positive Infektionsversuche mit Trypanosoma brucei durch Glossina palpalis. Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 11.

44. Leber, A., Über Trypanosomentoxine und trypanotoxische Keratitis parenchymatosa. Deutsche med. Wochenschr. 1908, S. 1850.

Nachtrag.

Seit dem Abschluß der vorstehend veröffentlichten Untersuchungen sind verschiedene Arbeiten erschienen, die das gleiche Gebiet behandeln und einer Besprechung bedürfen.

Was zunächst die Fähigkeit der Trypanosomen, mechanisch unverletzte Epithelschichten zu durchdringen, anlangt, wie das aus den von mir mitgeteilten Versuchen mit Rattentrypanosomen geschlossen werden mußte, so hat neuerdings Mesnil (1) mitgeteilt, daß sich die Spirochaeten und Trypanosomen in dieser Beziehung wesentlich zu unterscheiden scheinen. Ratten lassen sich bekanntlich durch Aufträufelung von infektiösem Blut auf die unverletzte Haut mit Rekurrens infizieren, wie ich in einer früheren Arbeit mitgeteilt habe (2). Diese Versuche sind inzwischen von Bohne (3) und Nattan-Larrier (4) bestätigt worden. Mesnil gibt nun an, daß ihm und den Gebrüdern Sergent die Infektion mit Trypanosoma equiperdum durch Einträufelung in die Augenbindehaut von Mäusen nicht gelungen sei, ebensowenig die Infektion durch die unverletzte Genitalschleimhaut, die sie mit Debab- und Schlafkrankheitstrypanosomen versucht haben. Auch bei der Dourine (Genitalschleimhaut von Kaninchen) gelinge — nach den Erfahrungen Mesnils — die Infektion durch die unverletzten Schleimhäute „nicht regelmäßig“.

Auf Grund dieser Feststellungen habe ich die perkutanen Übertragungsversuche in der gleichen Weise, wie sie mit positivem Erfolge bei Rekurrens und bei der Trypanosomiasis der Ratten angestellt wurden, bei Nagana und Dourine wiederholt und dabei in acht Versuchen mit Naganatrypanosomen trotz Verwendung ganz junger Ratten, bei denen ich das Vorhandensein einer weniger derben Epidermis als bei erwachsenen voraussetze, immer ein negatives Resultat gehabt, während in vier Versuchen mit Dourinetrypanosomen dreimal ein positives Ergebnis erzielt wurde. Daraus ist also der Schluß zu ziehen, daß nicht nur die Rattentrypanosomen, sondern auch andere Vertreter dieser Gattung eine mechanisch unverletzte Haut durchwandern können, wie dies bereits für die Dourine auch von Uhlenhuth, Hübener und Woithe festgestellt ist (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 27, Heft 2, 1907). Indes müssen in dieser Beziehung, wie die negativen Naganaversuche beweisen, wohl Unterschiede bestehen. Worauf diese beruhen, läßt sich vor der Hand mit Bestimmtheit nicht sagen. Jedenfalls ist es bei dieser Sachlage nötig, weitere ähnliche Versuche mit den übrigen Trypanosomenarten und besonders mit Trypanosoma gambiense anzustellen, um über den Mechanismus

der Schlafkrankheitsübertragung durch Coitus klaren Aufschluß zu bekommen. Es liegt ja nahe, anzunehmen, daß die bekanntermaßen verschieden große Lebensfähigkeit der einzelnen Trypanosomenarten außerhalb des lebenden Organismus anch Unterschiede in bezug auf die Möglichkeit einer perkutanen Übertragbarkeit bedingt.

Bezüglich der Verbreitung der Rattentrypanosomiasis unter den natürlichen Bedingungen hat Nuttal (5) jüngst Versuche mitgeteilt, aus denen hervorgeht, daß außer Haematopinus spinulosus auch zwei verschiedene Floharten die Trypanosomen übertragen können, nämlich der in Mitteleuropa gewöhnlichste Rattenfloh, Ceratophyllus fasciatus, und Ctenophthalmus agyrtes. Dadurch werden mithin die früheren Versuche von Rabinowitsch und Kempner (a. a. O.) bestätigt, die ebenfalls eine Übertragung durch Flöhe im Experiment nachgewiesen haben. Nuttal scheint geneigt zu sein, den Flöhen die wichtigste Rolle bei der Übertragung der Infektion unter natürlichen Verhältnissen zuzuschreiben.

Ich selbst habe inzwischen zwei Versuche mit Ceratophyllus fasciatus angestellt und trotz der Verwendung zahlreicher Exemplare (schätzungsweise 40—50 jedesmal) dabei kein positives Ergebnis erzielt. Wie wenig indes einzelne negative Versuche bei derartigen Fragen zu bedeuten haben, ist mir bereits früher klargeworden, wenn gelegentlich einwandfrei und unter anscheinend günstigen Bedingungen angestellte Übertragungsversuche mit Rattenläusen negativ verliefen, ohne daß ich eine Erklärung dafür fand. Es spielen ohne Frage bei diesen experimentellen Übertragungsversuchen noch unbekannte Veränderungen der Versuchsbedingungen durch die Jahreszeit oder anderweitige klimatische Einflüsse eine Rolle.

Nuttal sagt, daß die Übertragungsmöglichkeit durch Läuse und durch Flöhe einigermaßen gegen die Bedeutung spreche, die v. Prowazek den Hämatopini bei der Übertragung der Rattentrypanosomen zuschreibt. Im allgemeinen sind die Beispiele dafür, daß Vertreter zweier in der Organisation verschiedener Familien für einen Parasiten Wirtstiere in dem v. Prowazekschen Sinne sein können, nicht häufig, und das von Nuttal ausgesprochene Bedenken ist daher nicht ganz ungerechtfertigt. Immerhin ist bemerkenswert, daß nach den Angaben von Grassi und Rovelli (12) für eine Bandwurmart des Hundes und des Menschen (Dipylidium caninum = Taenia cucumerina) ebenfalls sowohl eine Floh-, wie eine Läuseart — Pulex (Ctenocephalus) serraticeps und Trichodectes canis — in Betracht kommen. Was die Läuse anbelangt, so ist experimentell bisher nur der Beweis geliefert, daß eine direkte Inokulation der Rattentrypanosomen durch sie stattfindet (McNeal, Manteufel, Nuttal, Baldrey). Ich selbst konnte nämlich nachweisen (s. o.), daß die Übertragung durch Läuse auch dann zustande kommt, wenn andere Infektionsquellen als der Biß der Läuse (z. B. die Infektion durch Zerdrücken infizierter Läuse auf der Haut oder die Infektion per os durch Verzehren infizierter Läuse) auszuschließen sind, und Baldrey (6) wies im Hartmannschen Laboratorium nach, daß die Läuse infizierter Ratten auch noch infektiös sind, wenn sie inzwischen 48 Stunden lang an uninfizierten Mäusen Blut gesogen hatten. Das ist ohne weiteres verständlich, da in der früheren Arbeit gezeigt worden ist, daß man die Trypanosomen im Magendarmkanal der Läuse 48 Stunden und länger mikroskopisch nachweisen kann. Ich kann Baldrey nicht beipflichten,

wenn er sagt, daß man im Körper einer mit Trypanosoma lewisi infizierten Laus die ursprünglichen Flagellaten 24 Stunden nach dem Saugen nur noch selten mikroskopisch nachweisen kann. Ebensowenig halte ich durch den einen von Baldrey angeführten Versuch für erwiesen, daß in den Läusen eine Entwicklung der Trypanosomen stattfindet, die 8—10 Tage dauert. Schwankungen der Inkubationszeit zwischen 5—14 Tagen kann man sich auch anders leicht erklären und wenn die Inkubationszeit bei unmittelbarer Übertragung der Läuse von der infizierten auf die uninfizierte Ratte nur 5 Tage betrug, im andern Falle, wo der 48stündige Aufenthalt der Läuse auf Mäusen dazwischen lag, aber 13 Tage, so könnte man daraus mit ebenso großer Berechtigung den Schluß ziehen, daß der zweitägige Aufenthalt der Trypanosomen in den Läusen und die Nahrung mit dem den Rattentrypanosomen bekanntlich nicht sehr zusagenden Mäuseblut die Flagellaten bereits in ihrer Zahl wie in ihrer Virulenz so sehr geschwächt hatte, daß die erfolgte Übertragung viel später mikroskopisch feststellbar wurde, als bei der direkten Übertragung von Ratte zu Ratte. Ich selbst habe, wie erwähnt, Schwankungen der Inkubationsdauer zwischen 5 und 12 Tagen auch beobachtet; da ich aber über diese Zeit hinaus keine längerdauernde Infektionsfähigkeit der Läuse im Experiment nachweisen konnte, kann ich mich nicht entschließen, die längere Inkubationszeit im Sinne einer vorher erfolgenden „Entwicklung“ der Trypanosomen in den Läusen zu deuten. In jedem Falle müßte also zunächst der Schluß gezogen werden, daß eine Übertragung der Ratten-Trypanosomiasis durch Läuse mit und ohne vorherige geschlechtliche Entwicklung möglich ist. Daß die letztere — also die kurze Inkubationszeit — praktisch belanglos sein sollte, wie Baldrey meint, wird durch meine Erfahrungen eigentlich nicht bestätigt. Nachdem Kleine (7) in m. E. einwandsfreier Weise den experimentellen Beweis geführt hat, daß im Körper der Glossinen erst irgendeine Entwicklung oder Veränderung der Trypanosomen vorgehen muß, ehe eine praktisch in Betracht zu ziehende Übertragung stattfindet, steht ein ebenso überzeugender experimenteller Beweis dafür, daß die Übertragung der Rattentrypanosomen durch Läuse nach einem ähnlichen Mechanismus wie bei den Glossinen vor sich geht, immer noch aus.

Da man z. B. weiß, daß die Übertragung der Rekurrensspirochaeten durch Zecken und durch Läuse auf ganz verschiedenen Wegen vor sich geht, indem in dem ersten Falle die Wanderung der Spirochaeten in die Eier und in die Speicheldrüsen der Argasiden vorangehen muß, während im zweiten Falle die im Magendarmkanal der Hämotopini befindlichen Spirochaeten das infektiöse Agens darstellen, kann auch in diesem Fall ein Analogieschluß von dem Übertragungsmechanismus der Glossinen auf den der Läuse zu falschen Vorstellungen führen.

Anderseits kann man sich meines Erachtens aber nicht auf den Standpunkt von Nuttall (5), Strickland (8) und Patton (9) stellen, die annehmen, daß von Prowazek und die anderen Forscher, die „Entwicklungsstadien“ der Rattentrypanosomen in Läusen beschrieben haben [Baldrey (6), Rodenwald (10)], durch das Vorkommen anderer, originär im Magendarmkanal der Läuse vorkommenden Flagellaten, Crithidien oder Herpetomonaden, irregeführt worden sein sollen. Wie ich in meiner früheren Arbeit bereits gesagt habe, konnte ich selbst in Läusen, die von trypanosomenfreien

Ratten stammten, niemals Flagellaten beobachten und Strickland (8) hat in 263 gleichen Hämatopini ebenfalls niemals Flagellaten gesehen. Das Vorkommen von Darmflagellaten scheint also bei Haematopinus spinulosus mindestens höchst selten zu sein.

Meiner Meinung nach kann es sich bei den von Prowazek, Baldrey u. a. gegebenen Formen nur um Stadien von Trypanosoma lewisi handeln, d. h. entweder Entwicklungsformen oder Degenerations- bezw. bei der Anfertigung der Präparate deformierte Formen. Ich selbst habe mich, wie gesagt, durch eigene Präparate von irgend welchen geschlechtlichen Vorgängen noch nicht überzeugen können.

Jedenfalls scheinen die Rattentrypanosomen eine ausgezeichnete Anpassungsfähigkeit an den Organismus der Haematopini zu besitzen, so daß die normalen Teilungsvorgänge eine Zeitlang keine Beeinträchtigung erfahren und man die Trypanosomen unter geeigneten Bedingungen (die Läuse hungern lassen!) mehrere Tage im Magendarmkanal der Läuse findet. Schon dadurch würde die Möglichkeit ihrer Übertragung durch den Saugakt ganz verständlich sein.

Ganz das Gegenteil ist meines Erachtens bei den Flöhen der Fall. Mir selbst sind zwar Übertragungsversuche mit Ceratophyllus fasciatus bisher überhaupt noch nicht gelungen, doch ist die Möglichkeit der Übertragung durch die Versuche von Rabinowitsch und Kempner und Nuttal sichergestellt. Der Übertragungsmechanismus dabei muß aber offenbar ein ganz anderer sein wie bei Haematopinus, da die Trypanosomen im Körper der Flöhe außerordentlich rasch zugrunde gehen. Ich habe auf diese Tatsache bereits hingewiesen und füge hinzu, daß Strickland im Magendarmkanal von 45 Flöhen (Ctenophthalmus agyrtes), die von infizierten Ratten stammten, nur zweimal mikroskopisch Trypanosomen nachweisen konnte; trotzdem gelang Nuttal auch mit dieser Art die Übertragung der Trypanosomiasis. Es hat danach den Anschein, als ob die Flöhe auf rein mechanischem Wege infizieren, was bei Haematopinus nicht der Fall ist. In einer Art von Rattenflöhen, die im Experiment Rattentrypanosomen übertragen können (Ctenophthalmus agyrtes), fand Strickland auch Darmcrithidien. Hier wäre also eine Verwechslung von Crithidien mit ähnlichen Stadien aus dem Entwicklungscyclus der Trypanosomen ohne weiteres zuzugeben, nicht aber bei Haematopinus.

Die Frage der Agglomerationsformen des Trypanosoma lewisi, die ich in meiner Arbeit behandelt habe, ist inzwischen wieder von Woodcock (11) und von Patton (9) angeschnitten worden. Die Arbeit von Woodcock ist mir leider nicht im Original zugänglich gewesen. Aus den kritischen Bemerkungen Pattons geht jedenfalls hervor, daß Patton sowohl als Woodcock bei Trypanosomen nur die Rosetten mit peripheriewärts gerichteten Geißeln als Agglomerationsformen ansehen. Dagegen sollen die Crithidien und Herpetomonaden aus dem Darm der Insekten nach Patton mit zentralwärts gerichteten Geißeln agglomerieren. Im ersten Falle soll es sich um einen pathologischen Vorgang, im letzteren dagegen um einen physiologischen Prozeß handeln. Patton will den Ausdruck Rosette dabei überhaupt auf die Vermehrungsstadien beschränkt wissen, von denen er im Blut von frisch mit Trypanosoma lewisi infizierten Ratten solche mit peripheriewärts gerichteten Geißeln, in Kulturen dagegen solche mit

zentral gelegenen Geißeln gesehen hat. Ob die Annahme Pattons, daß man die Agglomeration der Wirbeltiertrypanosomen und die Agglomeration der Darmflagellaten als zwei im Wesen verschiedene Erscheinungen gar nicht miteinander in Parallele setzen könne, zutrifft, oder ob es sich bei den angeblichen Agglomerationsrosetten der Darmflagellaten mit zentral gerichteter Geißel nicht vielmehr ebenfalls um Vermehrungsstadien handelt, wie ich annehmen möchte, bedarf m. E. noch weiterer Untersuchung. Jedenfalls scheint mir die Sachlage bezüglich der echten Trypanosomen jetzt soweit geklärt, daß die Agglomeration nur mit dem geißellosen Ende stattfindet, während die multiple Teilung sowohl zu Rosetten mit zentral- als auch mit peripheriewärts gerichteter Geißel führt.

Gr. Lichterfelde, Ende August 1909.

Literaturverzeichnis.

1. Mesnil, Pénétration des Trypanosomes par la peau et les muqueuses. Bull. soc. pathol. exot. Bd. 2, Nr. 5, 1909, S. 244.
2. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 27, 1907.
3. Bohne, A., Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene 1908.
4. Nattan-Larrier, Pénétration du spirille de la fièvre recurrente à travers les téguments et les muqueuses intacts. Bull. soc. pathol. exot. Bd. 2, Nr. 5, 1909, S. 239.
5. Nuttal, G. H. F., The transmission of Trypanosoma lewisi by fleas and lice. Parasitology Bd. I, 1908, S. 296.
6. Baldrey, F. S. S., Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosoma lewisi in der Rattenlaus Haematopinus spinulosus. Arch. f. Protistenkunde Bd. 15, H. 3, S. 326.
7. Kleine, F., Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 11 u. 29.
8. Strickland, B. A., On the supposed development of Trypanosoma lewisi in lice and fleas; and the occurrence of Crithidia ctenophthalmi in fleas. Parasitology Bd. II, 1909, Nr. 1 u. 2, S. 81.
9. Patton, W. S., A critical review of our present knowledge of the Haemoflagellates and allied forms. Parasitology Bd. II, 1909, Nr. 1 u. 2, S. 91.
10. Rodenwaldt, Diskussionsbemerkungen. Verhandl. d. Deutschen tropenmed. Gesellschaft 1909.
11. Woodcock, H. M., The haemoflagellates and allied forms. Treatise on zoology. Sect. G. part. I, S. 193.
12. Grassi, B. e Rovelli, G., Ric. embryol. sui Cestodi. Atti Gioen. sc. nat. Catania. 4. ser. IV; 1892.

Über das Verhalten von Normal- und Immunagglutininen bei Absorption und Filtration und beim Erhitzen — mit besonderer Berücksichtigung der Rotzagglutinine.

Von

Dr. Paul Andrejew,

Magister der Veterinärmedizin (Rußland), freiw. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

In einer Reihe von Arbeiten hat Landsteiner, z. T. in Gemeinschaft mit Reich, Uhlicz und Stankovic die Absorption (oder Adsorption) von Eiweißstoffen und Serumantikörpern, insbesondere Agglutininen durch verschiedene anorganische Suspensionen (Kohle, Kaolin u. a.) und durch Proteinstoffe (Kasein, Fibrin, Seide usw.) untersucht und dabei vielfach eine starke und bis zu einem gewissen Grade elektive Wirkung dieser Adsorbentien festgestellt, zu deren Erklärung er ebenso wie Michaelis und Michaelis und Ehrenreich, die Versuche über die Adsorption von Eiweißkörpern und Fermenten ausführten, eine Beteiligung chemischer bezw. elektrischer Kräfte annimmt. Neben den allgemeinen Gesichtspunkten, die sich aus dem Studium dieser Adsorptionsvorgänge für die Auffassung der Immunitätserscheinungen ergaben, ist Landsteiner dabei zugleich an mehreren Stellen seiner Arbeiten auf eine Frage eingegangen, die in letzter Zeit oft erörtert worden ist, inwieweit nämlich die spezifischen Antistoffe der Immunsera mit den entsprechenden Stoffen, die in Normalseris gefunden werden, zu identifizieren sind. Bekanntlich haben besonders Ehrlich und seine Mitarbeiter nachgewiesen, daß Normalsera häufig bereits Stoffe von gleicher Wirkung und Konstitution wie die Immunsera enthalten, nur in weit geringerer Konzentration. Ehrlich u. a. haben dementsprechend die Anschauung vertreten, daß in diesen Fällen der Effekt der Immunisierung nicht in einer Bildung neuer, sondern in einer einseitigen, exzessiven Vermehrung bereits vorhandener Stoffe besteht. Diese Anschauung ist im besonderen auch für die Agglutinine — auf diese beziehen sich unsere nachstehend mitgeteilten Versuche ausschließlich — unter Berufung auf die von Bordet, Malkoff u. a. mitgeteilten Absorptionsversuche vertreten worden.

Demgegenüber haben Landsteiner, Müller, Eisenberg u. a. auf Differenzen hingewiesen, die sich zwischen den Agglutininen der Normal- und Immunsera oft in ausgesprochener Weise finden. Nach den Versuchen von Landsteiner und seinen Mitarbeitern und von Müller liegen diese Differenzen, um die Hauptpunkte in etwas

schematischer Weise zusammenzufassen, etwa in folgendem. Die spezifischen Agglutinine besitzen eine höhere Affinität zu ihrem Antigen; diese kann sich in beschleunigterer und vollständigerer Absorption durch das Antigen (Müller) zeigen, anderseits darin, daß unter Bedingungen, welche die Wiederabspaltung der Antikörper vom Antigen begünstigen (Erhitzen auf 45°—60°), die Immunstoffe in geringerem Maße abgespalten werden, als die Normalstoffe (Landsteiner und Reich, Müller). Umgekehrt verhielten sich in einer Anzahl von Fällen die Agglutinine bei Absorption mit Eiweißstoffen (Kasein, Fibrin, Seide, koaguliertes Serumeiweiß) (Landsteiner und Stankovic, Landsteiner und Reich). Zu diesen zeigen die Normalagglutinine oft eine weit stärkere Affinität, als die Immunagglutinine.

Landsteiner und Stankovic fanden, daß die genannten Proteine aus Abrin- und Rizinlösungen einen sehr beträchtlichen Teil sowohl des Eiweißes als der Agglutinine (für Blutkörperchen) herausnahmen, aus Normalpferdeserum wurden die Hämagglutinine stark absorbiert, aber nicht die Eiweißstoffe; dagegen war eine Absorption von Immunhämagglutinin nicht nachzuweisen. Es ergab sich also mit wachsender Spezifität (Rizin — Normalserum — Immunserum) abnehmende Absorption des Agglutinins. Recht starke Differenzen ergaben auch die Versuche von Landsteiner und Reich über die Absorption von normalen und Immunhämagglutininen durch Kasein. Nach einmaliger Absorption zeigten Normalkaninchensera Verluste von 50—75%, nach dreimaliger vollständigen Verlust des Agglutinins, während Immunkaninchensera ihren Titer unverändert bewahrten. Die Autoren schließen hieraus, daß die Agglutinine der Normalsera beträchtlich leichter vom Kasein aufgenommen werden, als die der Immunsera. In einer nach Abschluß unserer Versuche erschienenen Arbeit von Landsteiner und Raubitschek findet sich schließlich die kurze Angabe, daß auch anorganische Adsorbentien, wie Kaolin und Kohle ein stärkeres Bindungsvermögen gegenüber Normal- als gegenüber Immunagglutininen zu besitzen scheinen. Daß manche Kolloide ein sehr starkes Adsorptionsvermögen auch für Immunagglutinine besitzen, geht aber bereits aus der Arbeit von Biltz, Much und Siebert hervor; die Autoren fanden, daß ein hochwertiges Typhusimmunagglutinin durch Eisen-Zirkon- und Thoriumhydroxyd sehr stark, durch Kieselsäure weit schwächer adsorbiert wurde.

Während sich die Untersuchungen von Landsteiner und seinen Mitarbeitern auf Hämagglutinine beziehen, fand Müller Unterschiede zwischen Normal- und Immunagglutininen für Typhusbazillen. Insbesondere wurden die Immunagglutinine erheblich schneller und ausgiebiger von den Bakterien gebunden und ließen sich schwerer wieder von ihnen abspalten. Allerdings erscheinen diese Differenzen nach den Untersuchungen Müllers insofern in etwas anderem Lichte, als beim Vergleich von normalen Seris und Seris aus verschiedenen Perioden der Immunisierung sich kein schroffer Gegensatz, sondern ein allmählicher Übergang zwischen Antikörpern verschiedener Avidität ergab; insbesondere soll nach Müller im Verlauf der Immunisierung eine allmähliche Steigerung der Affinität der Agglutinine zum Antigen zu beobachten sein, während beim Abklingen des Immunisierungseffekts allmählich wieder weniger avide Stoffe produziert werden. Ferner hat Müller darauf hingewiesen, daß für die Avidität der Agglutinine auch die Individualität des serumliefernden Tieres in

Betracht kommt, sodaß exakte Vergleiche in dieser Hinsicht eigentlich nur bei verschiedenen Serumentnahmen vom selben Tiere möglich sind.

Bereits früher hatten Rodet, Lüdke, Eisenberg gefunden, daß die Normal- und Immunagglutinine für verschiedene Bakterienarten in gewissen Fällen sich durch ihre Thermoresistenz unterscheiden. Eisenberg läßt es jedoch dahingestellt, ob daraus ein prinzipieller Unterschied zwischen Normal- und Immunagglutininen abzuleiten sei, jedenfalls sei aber eine Identifikation beider voreilig. Auch Landsteiner und Reich kommen zu dem Schluß, daß die Immunagglutinine (für Blutkörperchen) erheblich hitzebeständiger, als die entsprechenden Normalstoffe sind. Einige weitere Beobachtungen über Thermoresistenz der Agglutinine führen wir weiter unten an.

Kürzlich hat Händel einen Unterschied zwischen dem im normalen Eselserum oft reichlich vorhandenen Agglutinin für Flexnerbazillen und dem nach Injektion von Shigabazillen neugebildeten (also heterologen) Flexneragglutinin durch den Castellanischen Versuch festgestellt, indem nur das letztere, aber nicht das erstere von Shigabazillen absorbiert wurde. Bemerkenswert erscheint hierbei der Nachweis, daß in diesem Falle das Normalagglutinin durch das (eben durch seine Affinität zu den Shigabazillen charakterisierte) neugebildete Agglutinin verdrängt wird, daß aber nicht beide Arten nebeneinander sich finden; hierdurch schien nämlich die Möglichkeit gegeben zu sein, das Auftreten von Immunagglutininen auch in solchen Fällen nachzuweisen, wo ein Serum bereits normalerweise viel Agglutinin für die betreffende Bakterienart enthält. Dies ist aber bei der von uns vorzugsweise studierten Rotzagglutination der Fall.

Auf Anregung von Herrn Regierungsrat Prof. Neufeld habe ich nun untersucht, ob sich derartige Unterschiede zwischen Normal- und Immunagglutininen gesetzmäßig und durchgängig finden. Bei den Versuchen der früheren Autoren waren die untersuchten Normalsera relativ geringwertig gegenüber den Immunsera; wir glaubten nun im Gegensatz dazu besonders solche Fälle untersuchen zu sollen, in denen der Agglutinationswert des Normalserums ungewöhnlich hoch ist. Dies ist bekanntlich beim normalen Pferdeserum gegenüber Rotzbazillen der Fall, indem hier Werte von 1 : 500 und mehr keine Seltenheit sind.

I. Versuche über die Rotzagglutinine im Serum gesunder und rotzkranker Pferde.

Die Untersuchung der Verhältnisse bei der Rotzagglutination bietet neben dem theoretischen auch ein praktisches Interesse. Bekanntlich ist die Agglutinationsprobe für die Diagnose des Rotzes der Pferde von großer praktischer Bedeutung; sie gestattet jedoch in zahlreichen Fällen nicht ohne weiteres eine bestimmte Diagnose, da Werte bis zu 1 : 800 und selbst 1 : 1000 gelegentlich auch bei normalen Pferden vorkommen. Für diese Fälle wäre es nun von großer Wichtigkeit, wenn wir Normal- und spezifisches, neugebildetes Agglutinin auf einfache Weise, z. B. durch das Verhalten zu einem nicht spezifischen Adsorbens, unterscheiden könnten.

Wir haben daher eine Anzahl von Serumproben normaler und rotzkranker Pferde untersucht in bezug auf ihr Verhalten bei der Absorption mit nicht spezifischen

Stoffen, Kasein, Kaolin, Kieselsäure, Kieselgur, Baryumsulfat, Kohle, spezifisches Serumpräzipitat sowie bei Filtration durch verschieden starke Schichten von Kieselgur. Ferner wurden einige Versuche über die Thermoresistenz der genannten Antikörper und über ihre Affinität zum Antigen ausgeführt.

Besonderes Gewicht legten wir darauf, Sera zu untersuchen, die etwa gleich hohe Agglutinationswerte zeigten, von denen aber die einen von sicher gesunden, die andern von rotzkranken Pferden stammten. Die Sera verdanken wir Herrn Professor Miessner, Abteilungsvorsteher im Kaiser-Wilhelm-Institut für Landwirtschaft zu Bromberg. Die Diagnose Rotz bezw. rotzfrei ist in allen Fällen durch die Sektion sichergestellt worden.

Bezüglich der Technik der Rotzagglutination sei bemerkt, daß wir dieselbe nach der im Kochschen Institut ausgearbeiteten und von Kleine beschriebenen, später von Schütz und Miessner benutzten Methode ausführten, die Röhrchen wurden in den meisten Fällen 24 Stunden bei 37°, dann noch 12—24 Stunden im Zimmer gehalten, und das Resultat durch Betrachten des entstandenen Sediments (ohne Schütteln der Röhrchen) festgestellt. In einigen Versuchen wurde, anstatt die Röhrchen sedimentieren zu lassen, nach dem Verfahren von Miessner und Pfeiler kurze Zeit zentrifugiert; wir fanden dann etwas geringere Agglutinationswerte.

Bisweilen haben wir nach beendeter Sedimentierung die Röhrchen geschüttelt und die makroskopisch sichtbare Häufchenbildung beobachtet; dabei schienen beide Methoden etwa die gleichen Resultate zu geben.

Die Testflüssigkeit (bei 60° abgetötete, in Karbolkochsalzlösung aufgeschwemmte Rotzbazillen) zeigte sich mehrere Monate unverändert haltbar.

Es wurde darauf gesehen, daß die Konzentration der Testflüssigkeit in allen Röhrchen stets annähernd dieselbe war; wurde z. B. ein $^1/_{100}$ verdünntes Serum der Absorption unterworfen und dann in der Verdünnung 1 : 200 auf seine Agglutination untersucht, so geschah das, indem 1 Teil Serumverdünnung mit 1 Teil einer Testflüssigkeit versetzt wurde, die doppelt so konzentriert war, wie die sonst verwendete.

Die Bedingungen der Adsorption wurden vielfach variiert. Das Adsorbens wurde in größerer oder geringerer Menge zugesetzt, die Einwirkung geschah bei Zimmertemperatur oder bei 37°, die Zeitdauer der Einwirkung wechselte, in manchen Fällen wurde das Serum nach dem Abzentrifugieren nochmals derselben Prozedur unterworfen; begreiflicherweise wechselte die Stärke der Agglutininverluste je nach den Bedingungen. Als sehr wichtig fanden wir aber in Übereinstimmung mit den sonst bei Adsorptionsversuchen gemachten Erfahrungen noch einen weiteren Punkt, nämlich die Verdünnung des Serums; es zeigte sich sowohl bei den Adsorptions- als bei den Filtrationsversuchen durchweg, daß der relative Verlust an Agglutinin mit der Verdünnung des Serums erheblich zunahm. Alle bezüglichen Einzelheiten sind aus den nachfolgenden Versuchsprotokollen ersichtlich.

Hervorheben wollen wir noch, daß die verwendeten Rotzsera sowie die übrigen Sera, soweit nichts anderes angegeben ist, stets mit $^1/_2$ % Karbol versetzt waren. Wir glauben, daß die Ergebnisse unserer Versuche dadurch nicht beeinflußt worden sind. Bei einigen vergleichenden Versuchen mit unkonservierten Normal- und Immunseris (vergl. im II. Teil der Arbeit die Versuche über Ruhr- und Typhusagglutinine) zeigte sich kein Unterschied gegenüber dem karbolisierten Serum. Die für die Versuche über Rotzagglutination verwendeten Sera wurden innerhalb weniger Wochen nach der Entnahme untersucht. In jedem Falle waren die Proben von Normal- und Immunsera, die wir bei unsern Versuchen über die Rotzagglutinine miteinander verglichen, stets annähernd gleich alt; falls das Alter oder der Karbolzusatz einen Einfluß haben sollten, so würde derselbe also die Sera gleichmäßig treffen.

Wir lassen zunächst folgen die Versuche über

Absorption der Agglutinine durch Kasein.

Versuch 1.

Rotz-Pferdeserum 1 (Agglutinationstiter 1 : 2000),

Normal-Pferdeserum vom Schlachthof (Agglutinationstiter 1 : 250).

Sera mit 0,85 % NaCl $^{1}/_{10}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung versetzt mit 0,5 g **Kasein**[1], $^{3}/_{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur (22°) gehalten, oft geschüttelt, dann zentrifugiert und durch gewöhnliches Filterpapier filtriert.

Abguß (ca. 2,5 ccm) nochmals mit 0,25 g Kasein ebenso behandelt und dann mit Rotztestflüssigkeit agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 18 h bei 22° abgelesen.

Serumverdünnung	Pferdeserum			
	Normal vom Schlachthof		rotzig 1	
	ohne Zusatz (Kontrolle)	mit Kasein absorbiert	ohne Zusatz (Kontrolle)	mit Kasein absorbiert
1 : 20	+	+	.	.
1 : 50	+	+	.	.
1 : 100	+	—	+	+
1 : 200	+	—	+	+
1 : 250	±	—	.	.
1 : 500	—	—	+	+
1 : 750			+	+
1 : 1000			+	+
1 : 2000			+	—

Anmerkung: + bedeutet starke Agglutination, ± bedeutet schwache, aber deutliche Agglutination, — bedeutet keine Agglutination, . bedeutet in dieser Verdünnung nicht untersucht.

Versuch 2.

Rotz-Pferdeserum 1 (Agglutinationstiter 1 : 2000),

Normal-Pferdeserum 7 (Agglutinationstiter 1 : 600).

Sera $^{1}/_{100}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung versetzt mit 0,5 g **Kasein** und dann eine Portion bei 37° und andere Portion bei Zimmertemperatur (22°) 1 Stunde gehalten, 1 Stunde zentrifugiert und über Nacht auf Eis gehalten.

Am anderen Tage wurde der Abguß zwecks völliger Klärung $^{1}/_{2}$ Stunde zentrifugiert und durch Papier filtriert.

Resultat der Agglutination
nach 10′ langem Zentrifugieren abgelesen.

Serumverdünnung	Pferdeserum					
	Normal 7			rotzig 1		
	ohne Zusatz	mit Kasein		ohne Zusatz	mit Kasein	
		22°	37°		22°	37°
1 : 200	+	—	—	+	+	+
1 : 400	+	—	—	+	+	+
1 : 600	+	—	—	+	+	+
1 : 800				+	.	+
1 : 1000				+	+	+
1 : 1500				+	±	±
1 : 2000				+	—	—

[1]) Kasein nach **Hammarsten** (von **Merck**).

Versuch 2a.

Dieselben beiden Serumproben wurden einer 3maligen Absorption unterworfen. Es wurden 20 ccm der $^{1}/_{100}$ verdünnten Sera mit 2 g Kasein $^{1}/_{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, dann zentrifugiert, der Abguß davon (= ca. 10 ccm) mit 1 g Kasein ebenso behandelt, der Abguß hiervon (= ca. 5 ccm) wiederum mit 0,5 g Kasein versetzt und nochmals zentrifugiert. Die Röhrchen blieben über Nacht im Eisschrank stehen, nach dem Abgießen wurde dann zur völligen Klärung nochmals zentrifugiert und mit dem nunmehr klaren Abguß die Agglutination ausgeführt.

Ergebnis: Rotzserum 1 : 1000 +
1 : 1500 ±
1 : 2000 —
Normalserum 1 : 200 —

In den vorstehenden Versuchen zeigt sich, daß zwar die Agglutinine eines spezifischen Rotzserums ebenfalls durch Absorption mit Kasein teilweise gebunden wurden, daß jedoch der Verlust an Agglutinin ein weit geringerer war, als bei den beiden Normalsera.

Wir haben nunmehr andere Rotz- und Normalsera miteinander verglichen, und zwar zunächst ein sehr hochwertiges Normalserum (Titer 1 : 1000) mit einem relativ geringwertigen Serum eines rotzigen Pferdes (Titer 1 : 800); in derartigen Fällen würde ja gerade die Unterscheidung von Normal- und spezifischem Agglutinin ein praktisches Interesse haben.

Versuch 3.

Rotz-Pferdeserum 2 (Agglutinationstiter 1 : 800),
Normal-Pferdeserum 5 (Agglutinationstiter 1 : 1000).

Sera $^{1}/_{50}$ verdünnt; 7,5 ccm der Serumverdünnung versetzt mit 0,75 g Kasein, 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert und über Nacht auf Eis gehalten.

Am nächsten Morgen 45 Min. zentrifugiert, filtriert und zur völligen Klärung noch 15 Min. zentrifugiert.

Resultat der Agglutination
nach 12' langem Zentrifugieren.

Serumverdünnung	Pferdeserum			
	Normal 5		rotzig 2	
	ohne Zusatz	mit Kasein	ohne Zusatz	mit Kasein
1 : 100	+	+	+	±
1 : 200	+	±	+	—
1 : 400	+	—	+	—
1 : 600	+	—	+	—
1 : 800	+	—	+	—
1 : 1000	+	—	—	

In diesem Falle hat also das Agglutinin des Rotzserums durch die Absorption einen stärkeren Rückgang erfahren, als das des Normalserums.

Ein ähnliches Ergebnis hatte der nachstehende Versuch.

Versuch 4.

Rotz-Pferdeserum 3 (Titer 1 : 800),
Normal-Pferdeserum 6 (Titer 1 : 250).

Sera $^{1}/_{50}$ verdünnt; 7,5 ccm Serumverdünnung mit 0,75 g Kasein versetzt; 1 Stunde bei 37° gehalten. 1 Stunde zentrifugiert, filtriert und wieder 10 Min. zentrifugiert.

Resultat der Agglutination nach 10′ langem Zentrifugieren.

Serumverdünnung	Pferdeserum			
	Normal 6		rotzig 3	
	ohne Zusatz	mit Kasein	ohne Zusatz	mit Kasein
1 : 100	+	+	+	+
1 : 200	±	—	+	+
1 : 250	+	—	+	+
1 : 300	—	—	+	+
1 : 400			+	±
1 : 600			+	—
1 : 800			+	—
1 : 1000			—	—

Aus diesen Versuchen schließen wir, daß ein regelmäßiger Unterschied zwischen den im Serum von gesunden und von rotzkranken Pferden enthaltenen Agglutininen in bezug auf die Absorptionsfähigkeit durch Kasein nicht besteht.

Absorption mit Kaolin.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß wir eine 10 %ige Aufschwemmung von Kaolin in physiologischer Kochsalzlösung mit gleichen Teilen der angegebenen Serumverdünnung vermischten und, nachdem die Mischung eine bestimmte Zeit gestanden hatte, das Kaolin abzentrifugierten; die Klärung der Flüssigkeit gelingt hier viel leichter, als bei den Versuchen mit Kasein.

Bei der Berechnung der Serumverdünnung in den Agglutinationsröhrchen wurde das Volumen des Kaolins vernachlässigt; wurden z. B. 5,0 $^1/_{25}$ Serum mit 5,0 der Kaolinsuspension vermischt, so rechneten wir die im Abguß erhaltene Serumverdünnung als $^1/_{50}$. Um etwa die Agglutination dieses Serums in der Verdünnung 1 : 100 zu prüfen, wurde 0,5 des Abgusses mit 0,5 der (entsprechend konzentrierten) Testflüssigkeit versetzt.

Versuch 5.

Rotziges Serum 1 (Titer 1 : 2000) Normalserum 5 (Titer 1 : 1000)
" " 3 (" 1 : 800) " 6 (" 1 : 250)

Sera $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm einer 10 %igen Kaolinaufschwemmung versetzt, 1 Stunde bei 37° gehalten, 15 Minuten zentrifugiert, durch Papier filtriert und agglutiniert.

Resultat der Agglutination nach 24^h bei 37° und 18^h bei 22°.

Serumverdünnung	Pferdeserum							
	normal				rotzig			
	Serum 5		Serum 6		Serum 1		Serum 3	
	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+	+	+	—	+	+	+	+
1 : 200	+	+	+	—	+	+	+	+
1 : 250	+	+	±	—	+	+	+	+
1 : 300	+	+	—	—	+	+	+	+
1 : 400	+	±			+	+	+	±
1 : 600	+	—			+	+	+	—
1 : 800	+	—			+	+	+	—
1 : 1000	±	—			+	+	—	—
1 : 1500					+	+	—	—
1 : 2000					+	+		

Versuch 6.

Normal-Pferdeserum 10 (Titer 1 : 300), **Rotz-Pferdeserum** 8 (Titer 1 : 1000)
" " 9 (" 1 : 800) " " 5 (" 1 : 2000)

Sera $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10 % Kaolinaufschwemmung versetzt, 1 Stunde bei 37 ° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert, durch Papier filtriert und agglutiniert.

Resultat der Aggutination
nach 24 h bei 37 ° und 18 h bei 22 °.

Serumverdünnung	Pferdeserum							
	Normal 10		Normal 9		rotzig 8		rotzig 5	
	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+ +	+	+ +	—	+ +	+	+ +	+
1 : 200	+ +	±	+ +	±	+ +	+	+ +	[illegible]
1 : 300	+	—	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	+ +	+
1 : 400			+ +	—	+ +	—	+ +	+
1 : 600			+	—	+	—	+	+
1 : 800			±	—	±	—	+	±
1 : 1000					±	—	+	—
1 : 2000							±	—

Anmerkung: In diesem und den folgenden Versuchen bedeutet:
+ + sehr starke Agglutination (am Boden ausgebreitete, kompakte Membran aus agglutinierten Bazillen)
+ starke " (feine Membran)
± schwache " (feine Membran, in der Mitte derselben knopfförmiger Bodensatz).

In den Kontrollen (Kochsalzlösung + Testflüssigkeit) nur knopfförmiger Bodensatz, ohne membranartige Ausbreitung.

Versuch 7.

Rotz-Pferdeserum 4 (Titer 1 : 1000).
Normal-Pferdeserum 8 (Titer 1 : 400).

$^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10 %iger Kaolinaufschwemmung versetzt, 1 Stunde bei 37 ° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert, filtriert und agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37 ° und 18 h bei 22 °.

Serumverdünnung	Pferdeserum			
	Normal 8		rotzig 4	
	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+	—	+ +	+ +
1 : 200	+	—	+ +	+
1 : 300	+	—	+ +	+
1 : 400	+	—	+ +	±
1 : 600			+	—
1 : 800			±	—
1 : 1000			±	—
1 : 2000			—	—

Versuch 8.

Rotz-Pferdeserum 6 (Titer 1 : 2000),
„ „ 7 („ 1 : 2000),
„ „ 9 („ 1 : 1500).

$^{1}/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10 %igen Kaolin versetzt; 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert und agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 12 h bei 22°.

Serumverdünnung	Pferdeserum					
	rotzig 6		rotzig 7		rotzig 9	
	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
1 : 200	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
1 : 400	+ +	+ +	+ +	+ +	+	±
1 : 600	+	+	+	+	+	—
1 : 800	+	+	+	±	+	—
1 : 1000	+	+	+	—	+	—
1 : 1500	[illegible]	[illegible]	+	—	±	—
1 : 2000	+	—	+	—		

Die Absorptionsversuche mit Kaolin lassen sich, da sie alle mit der gleichen Methodik ausgeführt wurden, gut miteinander vergleichen. Das Ergebnis ist folgendes: Von 5 Normalsera mit Titern zwischen 1 : 250 und 1 : 1000 ergab sich bei einem, und zwar bei einem schwach (1 : 300) agglutinierenden Serum ein Verlust von nur etwa 33 % des Agglutiningehalts nach der Absorption, die übrigen zeigten Verluste über 50 %. Von den 8 Rotzsera zeigten 6 ebenfalls Verluste zwischen 50 und 80 %, eins ca. 40 %, und nur ein Serum zeigte keinen merklichen Verlust. Es ist dies das Rotzserum 1 mit dem Titer 1 : 2000, dessen Agglutinin sich auch dem Kasein gegenüber relativ widerstandsfähig gezeigt hatte. Zwei andere Rotzsera, die ebenfalls bis 1 : 2000 agglutinierten, gingen bei der Absorption auf 1 : 1000 bezw. 1 : 800 zurück.

Hiernach läßt sich also auch dem Kaolin gegenüber ein durchgreifender und konstanter Unterschied zwischen den Sera normaler und rotziger Pferde nicht feststellen; vielmehr machen sich beträchtliche individuelle Differenzen bemerkbar.

Absorption mit Baryumsulfat, mit Kieselgur und Kieselsäure.

Als weitere anorganische Adsorbentien haben wir Baryumsulfat, Kieselgur und Kieselsäure verwendet. Zu den Versuchen wurden das Rotz-Pferdeserum 8 mit dem Titer 1 : 1000 und das Normal-Pferdeserum 9 mit dem Titer 1 : 800 benutzt.

Das Ergebnis war, daß in allen drei Versuchen das Rotzserum nach der Absorption einen relativ etwas stärkeren Rückgang zeigte, als das Normalserum.

Versuch 9.

Rotz-Pferdeserum 8 (Titer 1:1000),
Normal-Pferdeserum 9 (Titer 1:800).

Sera $^{1}/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 2,5 ccm $BaCl_2$ $^{n}/_{5}$ und 2,5 ccm Na_2SO_4 $^{n}/_{5}$ versetzt, wobei ein Niederschlag entsteht; 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert, filtriert und sofort agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 22 h bei 37° und 24 h bei 22° abgelesen.

Serumverdünnung	Pferdeserum			
	Normal 9		rotzig 8	
	ohne Zusatz	mit $BaSO_4$	ohne Zusatz	mit $BaSO_4$
1:100	++	++	++	++
1:200	++	++	++	++
1:400	++	+	++	+
1:600	+	±	+	−
1:800	±	−	±	−
1:1000	·	·	±	−

Versuch 10.

Rotz-Pferdeserum 8 (Titer 1:1000),
Normal-Pferdeserum 9 (Titer 1:800).

Sera $^{1}/_{25}$ verdünnt: 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10%igem **Kieselgur** bezw. mit 5 ccm 10%iger **Kieselsäure** versetzt, 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert und dann agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 12 h bei 22° abgelesen.

Serumverdünnung	Pferdeserum					
	Normal 9			rotzig 8		
	ohne Zusatz	Kieselgur	Kieselsäure	ohne Zusatz	Kieselgur	Kieselsäure
1:100	++	++	++	++	++	++
1:200	++	++	+	++	++	+
1:400	++	+	±	++	+	±
1:600	+	±	−	+	±	−
1:800	±	−	−	±	−	−
1:1000	·	·	·	±	−	−

Absorption mit Kohle.

In besonders hohem Maße werden die Rotzagglutinine, wie aus dem folgenden Versuch hervorgeht, durch Knochenkohle absorbiert.

Versuch 11.

Rotz-Pferdeserum 1 (Titer 1:2000),
Normal-Pferdeserum 5 (Titer 1:1000).

Sera $^{1}/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 0,5 g **Knochenkohle** versetzt, 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert, filtriert und agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 18 h bei 22°.

In allen Röhrchen (Serumverdünnungen 1:25—1:1000 und 1:2000) keine Agglutination. Bodensätze wie bei Kontrolle mit 0,85%iger Kochsalzlösung.

Absorption durch ein spezifisches Serumpräzipitat.

Bekanntlich absorbiert ein spezifisches Serumpräzipitat äußerst stark Komplement, über das eigentliche Wesen dieser Bindung herrscht noch Unklarheit. Es schien uns daher von Interesse, zu untersuchen, ob andere, sonst leicht absorbierbare Serumstoffe von einem Präzipitat gebunden werden. Nun ist bereits aus den Versuchen von Manteufel u. a. bekannt, daß die spezifischen Agglutinine eines Serums bei der Präzipitation mittels eines Antiserums nicht gebunden werden; Neufeld und Händel konnten diese Tatsache bestätigen. Da unseres Wissens über das Verhalten der Normalagglutinine bei der Präzipitation keine Untersuchungen vorliegen, so haben wir einen derartigen Versuch angestellt, indem wir ein Normal-Pferdeserum mit hohem Agglutiningehalt mit spezifischem Antiserum präzipitierten. Da hierbei erfahrungsgemäß nicht alle präzipitable Substanz niedergeschlagen wird, so haben wir die Präzipitation noch zweimal wiederholt. Wie die nachstehende Tabelle zeigt, blieb das Agglutinin dabei quantitativ erhalten. Es wird also auch das Normalagglutin eines Serums weder mit der präzipitabeln Substanz zusammen ausgefällt, noch durch das Präzipitat absorbiert.

Versuch 12.

Normal-Pferdeserum 7 (Titer 1 : 600).

Serum $^{1}/_{10}$ verdünnt; 2,0 ccm mit 2 Tropfen Anti-Pferdeserum versetzt, der entstandenene Niederschlag wird abzentrifugiert, der Abguß nochmals mit Anti-Pferdeserum versetzt, wobei wieder ein Niederschlag eintritt, und über Nacht bei 37° gehalten. Dann wird zentrifugiert, filtriert und wiederum mit Anti-Pferdeserum versetzt, 1 Stunde bei 37° gehalten und zentrifugiert.

Die durch Antiserumzusatz entstandene geringe Verdünnung des Serums wurde nicht gerechnet.

Resultat der Agglutination
nach 10′ langem Zentrifugieren.

Serumverdünnung	Normal-Pferdeserum 7	
	ohne Zusatz	mit Anti-Pferdeserum
1 : 100	+	+
1 : 200	+	+
1 : 400	+	+
1 : 600	—	—

Filtration durch Kieselgur.

Im Anschluß an die Absorptionsversuche haben wir einige Filtrationsversuche angestellt. Wir filtrierten durch verschieden starke Schichten Kieselgur mit Hilfe des Büchnerschen Trichters.

Zur Technik. Wir benutzten Büchnersche Porzellantrichter mit geraden Wänden und 5 cm Durchmesser, deren Böden zunächst mit einer einfachen Lage von gehärtetem Filterpapier (Schleicher & Schüll, Nr. 575) bedeckt wurden. Die Kieselgur wurde ausgeglüht und mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:20 aufgeschwemmt; von dieser Aufschwemmung wurden abgemessene Mengen in den Trichter gegeben, durch Ansaugen mit einer Wasserstrahlpumpe wurde die überschüssige Kochsalzlösung entfernt und zunächst einige ccm Kochsalzlösung, alsdann das Serum hindurchgesaugt. In den folgenden Protokollen ist die Stärke der Filterschicht

in der Weise bezeichnet, daß die Menge der 5%igen Kieselguraufschwemmung, die auf den Trichter gegossen wurde, angegeben ist. 20 ccm der 5%igen Aufschwemmung ergaben eine Filterschicht von etwa 4 mm Stärke.

Es wurden stets nur geringe Mengen, 5—10 ccm, Serum bezw. Serumverdünnung filtriert, so daß also die Bedingungen für die Adsorption durch das Filtermaterial günstige waren. Durch einen Kontrollversuch stellten wir fest, daß das Filtrierpapier allein auch in doppelter Schicht unter gleichen Bedingungen keine nennenswerte Menge von Agglutinin absorbierte. Die Filtration ging unter Benutzung der Wasserstrahlpumpe so schnell von statten, daß die genannten Serummengen in weniger als ½ Minute durchfiltrierten.

Versuch 13.

Rotz-Pferdeserum 8 (Titer 1 : 1000),
Normal-Pferdeserum 9 (Titer 1 : 800).

Sera $^1/_{50}$ verdünnt; durch 5 ccm, 10 ccm und 20 ccm 5%ige Kieselguraufschwemmung filtriert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 18 h bei 22°.

Serumverdünnung	$^1/_{50}$ verdünntes Pferdeserum							
	Normal 9				rotzig 8			
	unfiltriert	filtriert durch Kieselgur			unfiltriert	filtriert durch Kieselgur		
		5 ccm	10 ccm	20 ccm		5 ccm	10 ccm	20 ccm
1 : 100	+ +	+	+	—	+ +	+	+	—
1 : 200	+ +	±	±	—	+ +	+	+	—
1 : 400	+ +	±	±	—	+ +	±	+	—
1 : 600	+	—	—	—	+	—	—	—
1 : 800	±	—	—	—	±	—	—	—
1 : 1000					+	—	—	—

Der Versuch ergab starke, bei dicker Schicht vollständige Zurückhaltung der Agglutinine im Filter; dabei verhielten sich das Normal- und das spezifische Agglutinin etwa gleich.

Außer der Dicke der Filterschicht ist die Verdünnung des Serums von wesentlichem Einfluß, indem unverdünntes Serum beim Filtrieren nur recht wenig Agglutinin verliert, mit zunehmender Verdünnung aber der Agglutininverlust steigt. Hierfür werden wir unten Beispiele anführen.

Von Schulz sind einige Versuche über Filtration von Rotzagglutinin mitgeteilt worden, in denen unverdünnte Sera durch recht starke Schichten von Asbest und Papier sowie durch Berkefeldfilter hindurchgesogen wurden; dabei trat in einigen Fällen ein geringer Verlust, in anderen gar keiner auf.

Absorption mit Rotzbazillen.

Nachdem sich bei den Absorptions- und Filtrationsversuchen ein gesetzmäßiger Unterschied zwischen dem in Normal- und dem in spezifischen Rotzsera enthaltenen Agglutinin nicht herausgestellt hatte, machten wir einige Versuche mit der Absorption durch abgetötete Rotzbazillen, wobei wir zunächst die gewöhnliche Testflüssigkeit benutzten.

Nach dem in der Einleitung Gesagten war es wahrscheinlich, daß spezifisches Agglutinin infolge seiner stärkeren Avidität zum Antigen ausgiebiger absorbiert werden würde als Normalagglutinin. Was im allgemeinen die Bindung der Antikörper an ihr

Antigen betrifft, so werden bekanntlich manche spezifischen Antikörper, wie das Hämolysin für Hammelblutkörperchen aus spezifischem Kaninchenserum, schon durch sehr kleine Mengen von Antigen schnell und ausgiebig gebunden; man kann daher aus einem solchen Serum durch Zusatz geringer Mengen von Blutkörperchen annähernd alles Hämolysin entfernen. Daß dagegen bei der Absorption von Agglutininen durch die zugehörigen Bazillen in der Regel ein erheblicher Teil des Agglutinins zurückbleibt und zwar relativ um so mehr, je konzentrierter die benutzte Serumverdünnung ist, ist aus zahlreichen Versuchen von Eisenberg und Volk u. a. bekannt.

Aus dem nachstehenden Protokoll geht hervor, daß durch Digerieren mit einer kleinen Menge von Rotzbazillen aus einem spezifischem Serum ein allerdings nur recht geringer Teil des Agglutinins entfernt wurde, während in dem Normalserum überhaupt kein merklicher Verlust eintrat. Es zeigte also das spezifische Agglutinin in der Tat eine etwas stärkere Verwandtschaft zum Antigen.

Versuch 14.

Rotz-Pferdeserum 8 (Titer 1 : 1000),
Normal-Pferdeserum 9 (Titer 1 : 800).

Sera $^1/_{50}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 0,5 ccm konzentrierter Rotz-Testflüssigkeit versetzt, $^1/_2$ Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert, abpipettiert und agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 24 h bei 22°.

Serumverdünnung	Pferdeserum			
	Normal 9		rotzig 8	
	Kontrolle	absorbiert mit Testflüssigkeit	Kontrolle	absorbiert mit Testflüssigkeit
1 : 100	+ +	+ +	+ +	+ +
1 : 200	+ +	+ +	+ +	+ +
1 : 400	+ +	+	+ +	+
1 : 600	+	+	+	±
1 : 800	±	±	±	±
1 : 1000			±	—

Im folgenden Versuch wurden zwei andere Sera mit einer sehr viel größeren Menge abgetöteter Rotzbazillen versetzt (eine ganze Agarkultur auf 3,0 $^1/_{10}$ verdünntes Serum); da sich die Bazillen nicht vollständig genug abzentrifugieren ließen, so wurden die Serumproben, ebenso wie das nicht der Absorption unterworfene Kontrollserum, noch durch eine dünne Schicht von Kieselgur filtriert. Sowohl das Normal- wie das spezifische Serum zeigten einen starken Rückgang des Titers, und zwar etwa im gleichen Verhältnis.

Versuch 15.

Rotz-Pferdeserum 1 (Titer 1 : 2000),
Normal-Pferdeserum 5 (Titer 1 : 800—1000).

Sera $^1/_{10}$ verdünnt; 3 ccm Serumverdünnung + 1 ganze Rotz-Agarkultur 1 Stunde bei 37° gehalten und dann durch 5 ccm Kieselgur filtriert.

Resultat der Agglutination
nach 24 h bei 37° und 18 h bei 22°.

Serum-verdünnung	Rotz-Pferdeserum		Normal-Pferdeserum	
	filtriert durch 5 ccm Kieselgur	absorbiert mit Rotzbazillen und dann durch 5 ccm Kieselgur filtriert	filtriert durch 5 ccm Kieselgur	absorbiert mit Rotzbazillen und dann durch 5 ccm Kieselgur filtriert
1 : 10	+	+	+	+
1 : 50	+	±	+	—
1 : 100	+	—	+	—
1 : 200	+	—	+	—
1 : 300	+	—	+	—
1 : 400	+	—	+	—
1 : 600	+	—	±	—
1 : 800	+	—	±	—
1 : 1000	+	—	—	—
1 : 1500	±	—		
1 : 2000	±	—		

Verhalten der Sera beim Erhitzen.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, sind in einer Reihe von Fällen die Immunagglutinine erheblich widerstandsfähiger gegen Erhitzen gefunden worden, als die Normalagglutinine. Aus den Arbeiten von Joos, Scheller, Shibayama geht jedoch hervor, daß auch die Typhusimmunsera sich beim Erhitzen nicht einheitlich verhalten, sondern daß es Immunagglutinine von recht verschiedener Thermoresistenz gibt. Mußte schon hiernach die in letzter Zeit oft geäußerte Annahme, als verhielten sich die Normal- und die Immunagglutinine beim Erhitzen prinzipiell verschieden, als nicht genügend begründet erscheinen, so kommen die jüngst erschienenen, sehr eingehenden Untersuchungen Strengs über Kolinormal- und Immunagglutinine zu dem Ergebnis, daß bei der verschiedenen Thermoresistenz derselben die Individualität des serumliefernden Tieres die Hauptrolle spielt.

Dafür, daß sich auch die Rotzagglutinine beim Erhitzen nicht gleichmäßig verhalten, sprechen die Untersuchungen von Bonome, Rabieux, Schütz, Fedorowsky, Schulz.

Wir erhitzten die $^1/_{10}$ verdünnten Sera in fest verschlossenen Fläschchen 6—24 Stunden auf 60°. Wie die nachstehenden Protokolle zeigen, wiesen schließlich alle untersuchten Sera einen starken Rückgang des Titers auf; die einzelnen Sera verhielten sich dabei verschieden, ein regelmäßiger Unterschied zwischen Normal- und Krankensera trat jedoch nicht hervor. Von den drei Normalsera war nach 24stündigem Erhitzen das eine von 800 auf 100, das zweite von 300 auf 100, das dritte von 400 auf < 100 zurückgegangen, während von den drei Krankensera zwei einen Rückgang auf annähernd $^1/_5$, eines auf $^1/_8$ des ursprünglichen Titers aufwiesen.

Versuch 16.

Rotz-Pferdeserum 7 (Titer 1 : 2000), **Normal-Pferdeserum** 8 (Titer 1 : 400),
„ „ 9 „ 1 : 1500). „ „ 10 „ 1 : 300).

Sera $^{1}/_{10}$ verdünnt; 12 und 24 Stunden bei 60° gehalten und dann agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 48 h bei 37°.

Serum-verdünnung	Pferdeserum erhitzt bei 60°							
	normal 10		normal 8		rotzig 9		rotzig 7	
	12 h	24 h	12 h	24 h	12 h	24 h	12 h	24 h
1 : 100	+	+	+	—	+	+	+	+
1 : 200	±	—	—	—	+	+	+	+
1 : 300	—	—	—	—	+		+	+
1 : 400			—	—	+	—	+	±
1 : 600					+	—	+	—
1 : 800					—	—	+	—
1 : 1000					—	—	+	—
1 : 1500					—	—	—	—
1 : 2000							—	—

Versuch 17.

Rotz-Pferdeserum 8 (Titer 1 : 1000),
Normal-Pferdeserum 9 (Titer 1 : 800).

Sera $^{1}/_{10}$ verdünnt; 6, 10, 12 u. 24 Stunden bei 60° gehalten und dann agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 48 h bei 37°.

Serum-verdünnung	Pferdeserum									
	normal 9					rotzig 8				
	unerhitzt	erhitzt bei 60°				unerhitzt	erhitzt bei 60°			
		6 h	10 h	12 h	24 h		6 h	10 h	12 h	24 h
1 : 100	+ +	+ +	+	+	+	+ +	+ +	+ +	+	+
1 : 200	+ +	+ +	±	—	—	+ +	+ +	+ +	+	+
1 : 400	+ +	—	—	—	—	+ +	+ +	+ +	+	—
1 : 600	+	—	—	—	—	+	+	±	—	—
1 : 800	±	—	—	—	—	+	—	—	—	—
1 : 1000						+	—	—	—	—

Schlußfolgerungen.

Die Rotzagglutinine werden durch manche Kolloide und Suspensionen wie Kasein, Kaolin, Baryumsulfat, Kieselgur, Kieselsäure, Kohle, sowie bei der Filtration durch Kieselgur stark absorbiert, sie werden durch längeres Erhitzen bei 60° stark geschädigt. Bei allen diesen Einwirkungen zeigen sich oft erhebliche Differenzen in dem Verhalten einzelner Sera; ein deutlicher und regelmäßiger Unterschied zwischen den in Normal-Pferdeseris und den in Seris von rotzkranken Pferden ent-

haltenen Agglutininen tritt jedoch nicht zutage. Insbesondere läßt sich aus unsern Versuchen keine Methode ableiten, um relativ hochwertige Normal- und relativ geringwertige Rotzsera zu differenzieren.

II. Versuche über das Verhalten der Ruhr-, Typhus- und Paratyphusagglutinine bei der Absorption und Filtration.

Die Versuche über das Rotzagglutinin haben wir durch weitere Versuche mit Ruhr-, Typhus- und Paratyphusagglutininen ergänzt. Hier verwendeten wir Sera, die durch künstliche Immunisierung von Versuchstieren erhalten und zum großen Teil recht hochwertig waren; es erschien möglich, daß dieselben sich anders verhalten würden als die Sera von spontan an Rotz erkrankten Tieren, bei denen sich der Titer meist nur etwa auf das doppelte bis vierfache des bei vielen gesunden Tieren gefundenen Titers erhebt. Ferner ist es bei den untersuchten Rotzsera natürlich nicht zu entscheiden, ob das darin enthaltene Agglutinin immer erst im Verlaufe der Krankheit neu entstanden ist oder ob es sich wenigstens zum Teil um Normalagglutinine handelt. Die jetzt folgenden Versuche mit Sera künstlich immunisierter Tiere lassen sich daher mit denen der anderen Autoren besser vergleichen.

Wichtig ist es, daß beim Vergleich verschiedener Serumproben genau gleiche Versuchsbedingungen eingehalten werden, insbesondere was die Zeit der Beobachtung betrifft. Wir haben mehrfach die auffallende Erscheinung beobachtet, daß, ganz abgesehen von einem etwaigen Rückgang des Titers, die Sera nach der Adsorption erheblich langsamer agglutinierten, als vorher.

Da die Mehrzahl dieser Sera im Gegensatz zu den Rotzsera — welche innerhalb einiger Wochen nach der Entnahme zur Untersuchung kamen —, bereits längere Zeit mit Karbolzusatz aufgehoben war und da sich darunter Proben von sehr verschiedenem Alter fanden, so ist der Zeitpunkt der Serumentnahme in den Tabellen stets vermerkt. In unsern Versuchen (vergl. besonders die Tabellen 19, 20, 26) hat sich allerdings ein deutlicher Unterschied in dem Verhalten frischerer und alter Serumproben bei der Absorption nicht gezeigt, ebenso wenig wie zwischen karbolversetzten und nicht konservierten Proben (s. die Versuche 20—22).

Zunächst führen wir zwei Versuche an, in welchen ein Flexner-Kaninchen- und ein Shigaruhr-Eselserum mit Kaolin absorbiert bezw. durch Kieselgur filtriert wurden; dabei wurde das Eselserum, das nicht nur Agglutinin für Shiga-, sondern daneben auch reichlich heterologes Flexneragglutinin enthielt (vergl. Händel) mit diesen beiden Bakterienarten austitriert. In einem dritten Versuche wurde ein frisch entnommenes Ruhreselserum mit und ohne Karbolzusatz in derselben Weise untersucht.

Versuch 18.

Flexner-Kaninchenserum (Agglutinationstiter 1 : 40 000) vom 12. 10. 07.

a) Serum $^1/_{10}$ und $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 10 und 20 ccm Kieselguraufschwemmung filtriert und agglutiniert.

b) Serum $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10%iger Kaolinaufschwemmung versetzt; 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert und agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 18 h bei 37°.

Serum-verdünnung	Flexner-Kaninchenserum					
	Unfiltriertes Serum ohne Zusatz (Kontrolle)	1/25 verdünnt und mit Kaolin absorbiert	1/10 verdünnt filtriert durch Kieselgur		1/25 verdünnt filtriert durch Kieselgur	
			10 ccm	20 ccm	10 ccm	20 ccm
1 : 10	+	+	+	+	+	+
1 : 50	+	+	+	+	+	+
1 : 100	+	+	+	+	+	+
1 : 200	+	+	+	+	+	+
1 : 300	+	+	+	+	+	+
1 : 400	+	+	+	+	+	+
1 : 600	+	+	+	+	+	+
1 : 800	+	+	+	+	+	+
1 : 1000	+	+	+	+	+	+
1 : 2000	+	+	+	+	+	+
1 : 4000	+	+	+	+	+	+
1 : 8000	+	+	+	+	+	+
1 : 12 000	+	+	+	—	±	—
1 : 16 000	+	±	+	—	±	—
1 : 20 000	+	—	±	—	±	—
1 : 30 000	+	—	.	.	.	.
1 : 40 000	+					
1 : 60 000	—					

Versuch 19.

Shiga Ruhr-Eselserum, Entnahme vom 8. 6. 07.

Serum 1/10 und 1/25 verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 10 ccm und 20 ccm 5 % Kieselguraufschwemmung filtriert und dann mit Ruhrbazillen (Shiga und Flexner) agglutiniert.

Resultat der Agglutination.
nach 18 h bei 37°.

Serum-verdünnung	Shiga-Ruhr-Eselserum									
	Unfiltriertes (Kontrolle)		1/10 verdünnt filtriert durch Kieselgur				1/25 verdünnt filtriert durch Kieselgur			
			10 ccm		20 ccm		10 ccm		20 ccm	
	Shiga baz.	Flexner baz.	Shiga-baz.	Flexner-baz.	Shiga baz.	Flexner-baz.	Shiga-baz.	Flexner-baz.	Shiga-baz.	Flexner-baz.
1 : 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1 : 300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 400	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 600	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1 : 800	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1 : 1000	+	+	+	+	+	.	+	+	+	—
1 : 2000	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—
1 : 3000	+	.	±	—	—	—	—	—	—	—
1 : 4000	—	.	—		.					

Versuch 20.

Shiga-Ruhr-Eselserum, 24 Stunden nach der Entnahme untersucht, mit und ohne Karbolsäurezusatz.

Serum $^{1}/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 10 und 20 ccm Kieselgur filtriert.
„ $^{1}/_{25}$ „ 5 „ „ „ mit 5 ccm 10 % Kaolinaufschwemmung versetzt, 1 Stunde bei 37° 1 Stunde zentrifugiert und durch Papier filtriert.

Resultat der Agglutination mit Shiga-Ruhrbazillen nach 20 h bei 37°.

Serum-verdünnung	Shiga-Ruhr-Eselserum							
	Kontrolle		Mit Kaolin absorbiert		filtriert durch Kieselgur			
					10 ccm		20 ccm	
	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure
1 : 25	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 50	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 100	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 200	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 400	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 800	+	+	+	+	+	+	+	+
1 : 1600	+	+	+	+	+	+	—	—
1 : 2000	+	+	+	+	+	+	—	—
1 : 3200	+	—	+	+	+	+	—	—
1 : 4000	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 5000	—	—	—	—	—	—	—	—

In den vorstehenden Versuchen zeigt das Flexnerruhr-Kaninchenserum einen deutlichen, wenn auch relativ nicht starken Rückgang des Agglutiningehaltes sowohl bei der Absorption mit Kaolin (Rückgang von 40000 auf 16000) als bei der Filtration (Rückgang auf 8000 bei Filtration durch die stärkste von uns verwendete Kieselgurschicht). Das Agglutinin des Shiga-Eselserums zeigte eine auffallend geringe Affinität zum Adsorbens; bei Adsorption mit Kaolin fand anscheinend gar kein, bei Filtration durch dünnere Schichten von Kieselgur ein sehr geringer Agglutininverlust statt und erst bei Filtration des $^{1}/_{25}$ verdünnten Serums durch starke Kieselgurschicht sank der Titer von 3000 auf 1000. Dabei ging das heterologe, in demselben Serum enthaltene Agglutinin für Flexnerbazillen etwa im gleichen Verhältnis, von 1000 auf 400 zurück. Die untersuchte Serumprobe war länger als $1^{1}/_{2}$ Jahre mit Karbol konserviert aufgehoben worden.

Der letzte der vorstehenden Versuche betrifft eine von demselben Esel frisch entnommene Serumprobe. Bei diesem Versuch wurde zugleich festgestellt, ob der Zusatz von Karbol einen Einfluß auf das Verhalten bei der Absorption hat: dies war ebenso, wie bei einigen späteren Versuchen, nicht der Fall. Im übrigen zeigte die frisch entnommene Serumprobe eine sehr geringe Absorbierbarkeit, es wurde anscheinend (bei Filtration durch eine dünne Kieselgurschicht) noch etwas weniger Agglutinin aufgenommen, als im vorhergehenden Versuch. Da es sich nur um kleine Differenzen handelt, so läßt sich ein bestimmter Schluß daraus nicht ziehen.

Hiernach wird also das Ruhragglutinin insbesondere des Eselserums von Kaolin und Kieselgur nur wenig absorbiert. Daß aber auch Normalagglutinine ähnliche Absorptionsverhältnisse zeigen können, geht aus den folgenden Versuchen hervor. Ein ganz schwaches (Titer 1 : 25) und ein stärkeres (Titer 1 : 100) Normal-Eselagglutinin für Flexnerbazillen behielten, in $^1/_{25}$ Verdünnung durch mittlere Kieselgurschicht (entsprechend 10 ccm) filtriert, ihren Titer unverändert bei, erst bei Filtration durch eine doppelt so starke Schicht trat ein deutlicher Verlust ein. Das erste Serum wurde ferner durch Absorption mit Kaolin nicht nennenswert beeinflußt. Die eine Serumprobe war frisch entnommen, die andere etwa ein Jahr alt.

Versuch 21.

Paratyphus B.-Eselserum, frisch entnommen.

Cholera-Eselserum 1, etwa ein Jahr alt, auf Verhalten ihrer Normalagglutinine für Flexner untersucht.

Paratyphus-Serum (mit und ohne 0,5 %ige Karbolsäure) $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm des Serum

a) durch 10 und 20 ccm Kieselgur filtriert und

b) mit 5 ccm 10 %igem Kaolin versetzt, 1 h bei 37 ° gehalten, zentrifugiert, durch Papier filtriert und mit Flexnerbazillen agglutiniert.

Choleraserum $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 10 und 20 ccm 5 %ige Kieselgur filtriert und dann mit Flexnerbazillen agglutiniert.

Resultat der Agglutination mit Flexnerbazillen nach 24 h bei 37 °.

Serum-verdünnung	Paratyphus B.-Serum				Choleraserum		
	Kontrolle (ohne Zusatz)	absorbiert mit Kaolin	filtriert durch Kieselgur		Kontrolle unfiltriert	filtriert durch Kieselgur	
			10 ccm	20 ccm		10 ccm	20 ccm
		ohne und mit Karbolsäure	ohne und mit Karbolsäure	ohne und mit Karbolsäure			
1 : 25	+	+	+	+	+	+	—
1 : 50	+	+	+	±	—	—	—
1 : 100	+	±	+	—	—	—	—
1 : 200	—	—	—	—	—	—	—
1 : 400	—	—	—	—	—	—	—

Weit weniger stabil bei Filtration durch Kieselgur und Kaolin erwies sich das Flexneragglutinin eines normalen, frisch entnommenen Pferdeserums (Versuch 22); es zeigte bereits bei Filtration durch die dünne Kieselgurschicht einen starken Rückgang (von 100 auf 25). Auch hier sehen wir also wieder starke individuelle Differenzen. Dagegen zeigte sich ebensowenig wie im vorigen Versuch ein Unterschied zwischen karbolversetzten und nicht konservierten Serumproben.

Versuch 22.

Normal-Pferdeserum frisch entnommen:

a) ohne Karbolsäure

b) mit „ (0,5 %).

Sera a und b 24 Stunden im Eisschrank gehalten; dann $^1/_{25}$ verdünnt und filtriert durch 10 und 20 ccm 5 %ige Kieselgur- und 20 ccm 5 %ige Kaolinaufschwemmung.

Resultat der Agglutination mit Flexnerbazillen
nach 24 h bei 37°.

Serumverdünnung	Normal-Pferdeserum							
	unfiltriert		filtriert durch Kieselgur				filtriert durch Kaolin	
			10 ccm		20 ccm		20 ccm	
	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure	ohne Karbolsäure	mit Karbolsäure
1 : 25	+ +	+ +	+ +	+ +	—	—	+	+
1 : 50	+ +	+ +	—	—	—	—	—	—
1 : 100	+	+	—	—	—	—	—	—
1 : 200	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 400	—	—	—	—	—	—	—	—

Wir haben sodann einige Proben hochwertiger Typhus- und Paratyphussera in derselben Weise der Absorption und Filtration unterworfen. Dabei ergaben sich durchweg deutlich stärkere Agglutininverluste, als bei den Ruhrsera.

So zeigte bei Absorption mit Kaolin ein hochwertiges Paratyphus-Eselserum einen Rückgang von 2000 auf < 500, ein Paratyphuskaninchenserum von 2000 auf 500, ein Typhuseselserum von 4000 auf 500. In allen diesen Fällen besaßen also die Agglutinine der hochwertigen Immunsera starke Affinität zum Absorbens. (S. die Tabellen 23 bis 25.)

Versuch 23.

Paratyphus B.-Eselserum vom 15. 6. 07.

Serum 1/25 verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10%igem Kaolin versetzt; 1 Stunde bei 37° gehalten, zentrifugiert und mit dem Greifswalder Fleischvergifter (Paratyphus B) agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 2 h bei 37°.

Serumverdünnung	Paratyphus B.-Eselserum	
	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+	+
1 : 500	+	—
1 : 1000	+	—
1 : 2000	±	—
1 : 4000	—	—
1 : 5000	—	—

Versuch 24.

Paratyphus B. Kaninchenserum.

Serum 1/25 verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10%ige Kaolin versetzt, 1 Stunde bei 37° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert; über Nacht auf Eis und dann mit Paratyphus B. agglutiniert.

Resultat der Agglutination nach 2 h bei 37 °.

Serum-verdünnung	Paratyphus B.-Kaninchenserum	
	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+ + +	+ +
1 : 500	+ +	±
1 : 1000	+ +	—
1 : 2000	±	—
1 : 4000	—	—

Versuch 25.

Typhus-Eselserum vom 11. 9. 08.

Serum $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10 %igem **Kaolin** versetzt; 1 Stunde bei 37 ° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert; dann mit **Typhus** St. 234 agglutiniert.

Resultat der Agglutination nach 2 h bei 37 °.

Serum-verdünnung	Typhus-Eselserum	
	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+ + +	+ +
1 : 500	+ +	+
1 : 1000	+ +	—
1 : 2000	+ +	—
1 : 4000	+	—
1 : 8000	—	—
1 : 16000	—	—

Ebenso wie bei Ruhrserum haben wir auch beim Paratyphusserum zwei Serumproben von recht verschiedenem Alter in bezug auf ihr Verhalten bei der Absorption verglichen. Eisenberg hat über einen Fall berichtet, in welchem ein Serum nach 5 Monate langer Aufbewahrung mit Karbol und später wieder nach 16 Monate langer Aufbewahrung in bezug auf seine Thermoresistenz geprüft wurde; dabei war das Serum bei der zweiten Prüfung deutlich thermolabiler. Wir haben zwei Serumproben von demselben Paratyphusesel nebeneinander geprüft, von denen die eine 1 Monat, die andere über 3 Jahre alt war. Wie das folgende Protokoll zeigt, ergaben beide Proben annähernd gleich starken Verlust bei der Absorption.

Versuch 26.

Paratyphus B Eselserum vom 8. 12. 08 (Titer 1 : 4000),
Serum desselben Esels vom 21. 10. 05 (Titer 1 : 2000).

Sera $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 5 ccm 10 %igem **Kaolin** versetzt; 1 Stunde bei 37 ° gehalten, 1 Stunde zentrifugiert, filtriert und mit **Paratyphus B. Hellwig** agglutiniert.

Resultat der Agglutination nach 2 h bei 37 °.

Serum-verdünnung	Frisches Serum vom 8. 12. 08		Altes Serum vom 21. 10. 05	
	ohne Zusatz	mit Kaolin	ohne Zusatz	mit Kaolin
1 : 100	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
1 : 500	+ + +	+	+ + +	—
1 : 1000	+ +	—	+ +	—
1 : 2000	+	—	+	—
1 : 4000	±	—	—	—
1 : 5000	—	—		

Wir haben ferner das Verhalten des Typhusimmunagglutinins bei der Filtration durch verschieden starke Schichten von Kieselgur untersucht. Wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, ergab sich ein erheblicher Unterschied, der sich uns bei zahlreichen weiteren Filtrationsversuchen bestätigt hat, indem unverdünntes Serum sehr geringe, verdünntes Serum dagegen mit abnehmender Konzentration steigende Einbuße an Agglutinin erlitt. So ging bei Filtration durch eine dicke Filterschicht der ursprüngliche Agglutinationstiter von 1 : 2000 bei unverdünntem Serum auf 1000, bei $^1/_{10}$ verdünntem auf 100, bei $^1/_{50}$ verdünntem auf < 100 herab (Versuch 27).

Im allgemeinen gilt ja für alle Adsorptionen das Gesetz, daß bei steigender Konzentration einer Lösung ein relativ geringerer Teil des gelösten Stoffes adsorbiert wird; dasselbe ergab sich auch bei der von Biltz, Much und Siebert studierten Adsorption von Tetanustoxin und bei Versuchen von Landsteiner und seinen Mitarbeitern über die Adsorption von Eiweißstoffen und nicht spezifischen Agglutininen.

Versuch 27.

Typhus-Eselserum (Agglutinationstiter 1:2000) vom 8. 11. 07.

Serum unverdünnt; $^1/_{10}$ und $^1/_{50}$ verdünnt; 5 ccm des unverdünnten, bezw. verdünnten Serums durch 5 ccm und 20 ccm 5%ige Kieselguraufschwemmung filtriert.

Resultat der Agglutination mit Typhusbazillen, Stamm 234 nach 2^h bei 37°.

Serumverdünnung	Typhus-Eselserum						
	Unfiltriertes (Kontrolle)	unverdünnt		$^1/_{10}$ verdünnt		$^1/_{50}$ verdünnt	
		filtriert durch Kieselgur					
		5 ccm	20 ccm	5 ccm	20 ccm	5 ccm	20 ccm
1 : 100	+	+	+	+	±	+	—
1 : 500	+	+	+	+	—	+	—
1 : 1000	+	+	+	+	—	+	—
1 : 2000	±	±	—	±	—	—	—
1 : 4000	—	—	—	—	—	—	—
1 : 5000	—	—	—	—	—	—	—

Neben Kieselgur haben wir in ganz derselben Weise als Filtermaterial auf dem Büchnerschen Trichter auch Kaolin verwendet, über dessen Absorptionsvermögen beim Ausschütteln mit verdünntem Serum bereits oben eine Anzahl von Versuchen mitgeteilt wurde.

Bei einem vergleichenden Versuch mit Ausschütteln fand sich, daß das Kaolin (gegenüber Rotzagglutinin) weitaus am stärksten, die Kieselgur am schwächsten absorbierte, während Kieselsäure in der Mitte stand (vergl. die Versuche 6 und 10). Bei dem nachstehenden Versuch zeigte das Kaolin auch als Filtermaterial eine recht starke Absorptionskraft für Typhusagglutinin.

Versuch 28.

Typhus-Eselserum vom 8. 11. 07.

Serum $^1/_{10}$ und $^1/_{50}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 10 und 20 ccm 10%ige Kaolinaufschwemmung filtriert und dann mit Typhusbazillen Stamm 234 agglutiniert.

Resultat der Agglutination
nach 2 h bei 37° und 18 h bei 22°.

Serum-verdünnung	Typhus-Eselserum					
	Unfiltriertes (Kontrolle)	$^1/_{10}$ verdünnt		$^1/_{50}$ verdünnt		
		filtriert durch 10 % Kaolin				
		5 ccm	10 ccm	5 ccm	10 ccm	20 ccm
1 : 10	+	+	+	.	.	.
1 : 25	+	+	+	.	.	.
1 : 50	+	+	—	—	—	—
1 : 100	+	+	—	—	—	—
1 : 200	+	+	—	—	—	—
1 : 300	+	+	—	—	—	—
1 : 400	+	±	—	—	—	—
1 : 800	+	—	—	—	—	—
1 : 1000	+	—	—	—	—	—
1 : 2000	±	—	—	—	—	—
1 : 4000	—	—	—	—	—	—

Als ein außerordentlich kräftiges Absorbens erwies sich, ebenso wie bei dem oben mitgeteilten Versuch mit Rotzserum (Versuch 11), die Knochenkohle.

Versuch 29.

Typhus-Eselserum vom 8. 11. 07.

Serum $^1/_{25}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 0,5 ccm Knochenkohle versetzt, 1 Stunde bei 37° gehalten und 18 Stunden auf Eis; dann 1 Stunde zentrifugiert und durch Papier filtriert.

Resultat der Agglutination
nach 2 h bei 37° und 18 h bei 22°.

Serum-verdünnung	Typhus Misch-Eselserum	
	Kontrolle	$^1/_{25}$ verdünnt und mit Kohle absorbiert
1 : 25	+	—
1 : 50	+	—
1 : 100	+	—
1 : 200	+	—
1 : 400	+	—
1 : 800	+	—
1 : 1000	+	—
1 : 2000	±	—
1 : 4000	—	—

Hiernach besitzt Kohle ein weit stärkeres Bindungsvermögen für Agglutinine, als Kaolin, Kieselgur und Kieselsäure. Eine ebenfalls sehr starke Absorption von Typhusagglutinin sahen Biltz, Much und Siebert durch Eisen-, Zirkon- und Thoriumhydroxyd; diese Kolloide zeigen bei Aufschwemmung in Wasser positive elektrische Ladung. Weit geringer war bei den Versuchen der genannten Autoren die Absorption durch Kieselsäure (— Kolloid).

Ergebnisse des II. Teiles.

Aus den vorstehenden Versuchen geht hervor, daß die Typhus-, Paratyphus- und Ruhragglutinine verschiedener Serumproben bei Filtrations- und Absorptionsversuchen in ungleichem Grade von dem absorbierenden Material zurückgehalten werden; dabei zeigte sich jedoch kein gesetzmäßiger Zusammenhang mit der Titerhöhe der Sera und ebensowenig ließ sich ein prinzipieller Unterschied zwischen den untersuchten Normal- und Immunagglutininen erkennen. Offenbar spielen individuelle Unterschiede der serumliefernden Tiere eine große Rolle.

Im einzelnen ergibt sich, daß hochwertige Typhus- und Paratyphussera nach Absorption mit Kaolin einen starken Rückgang des Agglutinationstiters aufwiesen; bei der gewählten Versuchsanordnung wurden aus den Typhus- und Paratyphuseselsera etwa 90%, aus einem Paratyphuskaninchenserum etwa 75% des Agglutinins durch das Absorbens herausgenommen. Dagegen zeigten bei gleicher Versuchsanordnung zwei Proben eines Ruhreselserums gar keinen Agglutinationsverlust, weder für das Haupt- (Shiga-), noch für das Neben-(Flexner-) Agglutinin, ein besonders hochwertiges Flexnerkaninchenagglutinin einen Verlust von etwa 60%.

Ebenso stabil wie das Agglutinin des Immuneselserums zeigte sich bemerkenswerterweise auch das Flexneragglutinin des Normaleselserums (zwei Proben) gegenüber dem Kaolin; die Proben wiesen keinen Verlust bei der Absorption auf. Stärkere Affinität zum Kaolin hatte dagegen das Flexneragglutinin eines Normalpferdeserums.

Bei Filtration durch Kieselgur im Büchnerschen Trichter fand ebenfalls eine starke Absorption von Agglutinin statt, und zwar wiederum bei zwei Typhussera in höherem Grade als bei den untersuchten Ruhrsera. Auch das Flexneragglutinin des Normalserums (zwei Proben) wurde wieder nur in sehr geringem Grade, ein Flexneragglutinin aus Normalpferdeserum dagegen erheblich stärker absorbiert. Stets ergab sich ein beträchtlicher Unterschied, je nachdem das Serum konzentriert oder in verschieden starker Verdünnung mit Kochsalzlösung filtriert wurde, indem der relative Verlust um so größer war, je stärker das Serum verdünnt wurde.

Literatur.

Biltz, Much und Siebert, v. Behrings Beiträge zur experimentellen Therapie Heft 10, 1905.

Bonome, Zentralbl. f. Bakter. Bd. 33, 601, 1903.

Eisenberg und Volk, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. 40.

Eisenberg, Zentralbl. f. Bakter. Bd. 41, 1906.

Fedorowski, ref. Baumgartens Jahresber. 1902, 316.

Händel, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 28, S. 358, 1908.

Joos, Zentralbl. f. Bakter. Orig. Bd. 33.

Kleine, Über Rotz. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 44, S. 183, 1903.

Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1902, S. 1905; Zeitschr. f. Colloidchemie Bd. 3, 221, 1908.

Landsteiner und Raubitschek, Biochemische Zeitschr. Bd. 15, S. 33, 1909.

Landsteiner und Reich, Zentralbl. f. Bakter. Bd. 39, 712, 1905; Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 58, S. 213, 1907.

Landsteiner und Stankovic, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 41, 108.

Landsteiner und Uhlicz, Zentralbl. f. Bakter. Bd. 40, 264.
Lüdke, Zentralbl. f. Bakter. Orig. Bd. 42.
Manteufel, Münch. med. Wochenschr. 1906, S. 1996.
Michaelis, Biochem. Zeitschr. Bd. 7, 488; Handbuch von Korángi und Richter II, 341, 1908.
Michaelis und Ehrenreich, Biochem. Zeitschr. Bd. 10, 283, 1908.
Miessner, Zentralbl. f. Bakter. Bd. 48, S. 249, 1908.
Müller, Archiv f. Hygiene Bd. 64, S. 62, 1908; Zentralbl. f. Bakter. Orig. Bd. 46, 248, 1908; Zeitschr. f. Immunitätslehre Bd. 3, 1909.
Pfeiler, Archiv f. wiss. und prakt. Tierheilkunde Bd. 34.
Rabieux, Baumgartens Jahresber. 1902, 317.
Rodet, Zentralbl. f. Bakter. Orig. Bd. 37, 714.
Scheller, Zentralbl. f. Bakter. Orig. Bd. 36.
Shibayama, ebend. Bd. 42.
Schütz und Miessner, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde, Bd. 31, 353, 1905.
Schulz, Zur Agglutination der Rotzbazillen. Dissertation. Bern 1909.
Streng, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. 62, 281, 1909.

Die Übertragung der Trichinen auf das Schwein.

Von

Dr. Ströse,

Regierungsrat und Mitglied des Kaiserl. Gesundheitsamtes.

Stadttierarzt Höyberg in Frederiksberg hat vor einiger Zeit Untersuchungen über die Art der Übertragung der Trichinen auf das Schwein veröffentlicht, die zu auffallenden Ergebnissen geführt haben[1]). Er will leicht und häufig Darmtrichinen im Körper eines zweiten Wirtes zur Weiterentwicklung gebracht haben. In 16 Versuchen soll 14 mal eine Infektion von Ratten mit trichinenhaltigem Kot gelungen und zweimal eine solche Infektion auch bei Schweinen erfolgreich gewesen sein. Hieraus, sowie auf Grund des Ergebnisses zahlreicher Untersuchungen von Kot frisch mit Trichinen infizierter Versuchstiere folgert Höyberg, daß die Verbreitung der Trichinen unter den Schweinen durch die Exkremente trichinöser Tiere, insbesondere von Schweinen, geschehe. Diese Schlußfolgerung steht mit der herrschenden Annahme bekanntlich in schroffem Widerspruch. Bis zu den Untersuchungen Höybergs hat man in neuerer Zeit fast allgemein angenommen, daß das Schwein und die anderen Haustiere, die Trichinen beherbergen können, wie z. B. der Hund, durch das Verzehren des Muskelfleisches von Ratten, also durch Aufnahme von Muskeltrichinen, trichinös werden. Die Ratten werden häufig, viel häufiger als das Schwein, mit Trichinen behaftet befunden. Im Königreich Preußen entfielen z. B. auf 1000 untersuchte Schweine im Jahre 1887 0,51 trichinöse; im Jahre 1897 waren 0,19 Stück, im Jahre 1907 nur 0,05 Stück trichinös. Bei den Ratten dagegen ist der Prozentsatz trichinös befundener Tiere bedeutend größer. Nach Heller waren von 704 aus 29 verschiedenen bayerischen, sächsischen, württembergischen und österreichischen Orten stammenden Ratten 8,3 %, nach Csokor von den aus dem Schlachthaus St. Marx in Wien stammenden 5 %, nach Franck von 33 aus Münchener Schlächtereien herrührenden 6 % und von 77 aus den Abdeckereien von Erlangen, Nürnberg und Kronach stammenden 9 %, nach Adam von 18 aus den Abdeckereien Augsburgs eingelieferten 11 %, nach Fessler von 24 in dem Schlachthaus und der Fleischverkaufshalle zu Bamberg gefangenen 50 % und nach Billings von den aus einer Exportschlächterei zu Boston herrührenden Ratten sämtliche, also 100 %, trichinös. Gerlach hat ermittelt, daß die Ratten aus den Ställen hannöverscher Schlächter, bei

---

[1]) Beitrag zur Biologie der Trichine. Zeitschr. f. Tiermedizin, 11. Bd., 1907, S. 209.

denen trichinöse Schweine vorgekommen waren, zum größten Teile trichinös waren, und Müller fand in Blankenburg, wo bis 1868 mehrere Jahre hindurch Trichinose unter Menschen aufgetreten war, sämtliche auf der Abdeckerei gefangene Ratten trichinös[1]).

Die Annahme Höybergs, wonach die Schweine durch die Aufnahme des Kotes trichinöser Tiere die Trichinen erwerben sollen, ist bereits in das bekannte Buch von Professor Dr. Braun „Die tierischen Parasiten des Menschen", Würzburg 1908, 4. Auflage und in die „Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere" von Hutyra und Marek, 2. Auflage, Jena 1909, übergegangen.

Die genaue Kenntnis der Art der Verbreitung der Trichinen ist für ihre Bekämpfung beim Schwein und dadurch mittelbar auch für die Verhütung der Trichinenkrankheit des Menschen von Bedeutung. Wenn es als erwiesen angesehen werden müßte, daß die Trichinen nicht nur durch Muskelfleisch, sondern auch durch den Kot trichinöser Tiere auf gesunde Tiere übertragen werden, trichinöse Schweine somit ihre Stallgenossen anzustecken vermöchten, dann müßten alle Schweine als der Trichinose verdächtig behandelt werden, die mit einem trichinösen zusammengelebt haben. Aus diesem Grunde und wegen des wissenschaftlichen Interesses, das die Frage bietet, habe ich die Angaben Höybergs nachgeprüft und teile nachstehend die Ergebnisse der von mir im Laboratorium der Veterinärabteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführten Untersuchungen mit.

Bei dieser Gelegenheit habe ich mich auch mit der Frage beschäftigt, welche Rolle die Ratten überhaupt mit Bezug auf die Verbreitungsart der Trichinen unter den Schweinen spielen. Anlaß hierzu bot mir eine Abhandlung von Stäubli[2]), der sich gleich mir mit der Nachprüfung der Angaben Höybergs beschäftigt hat und — ebenfalls entgegen der bisher herrschenden Auffassung — die Ansicht vertritt, daß das Schwein und nicht die Ratte der eigentliche Generationserhalter der Trichine sei. Nach der Meinung Stäublis gehen nämlich die Ratten an der Einwanderung der Darmtrichinen, die er im Gegensatz zu Höyberg für fremde Wirte als ungefährlich erachtet, leicht zugrunde. Dieser Punkt hat für die Trichinenbekämpfung insofern eine große praktische Bedeutung, als die Aussichten, die Trichinen vollständig auszurotten, wesentlich günstiger sein würden, wenn nur das Schwein als Trichinendauerträger in Betracht käme, und die Vernichtung der Ratten in den Trichinengehöften sich somit erübrigen würde.

I. Untersuchungen über die Weiterentwicklung von Darmtrichinen im Körper fremder Wirte.

Vorweg möchte ich zwei Angaben berichtigen, die Höyberg in seiner vorerwähnten Arbeit gemacht hat.

Er führt an, es sei schon durch frühere Versuche bewiesen worden, daß Darmtrichinen imstande seien, fremde Wirte zu infizieren. Ostertag[3]) hat aber bereits

[1]) Zitiert nach Ostertag, Handbuch der Fleischbeschau, 5. Aufl., S. 436.

[2]) Über die Verbreitungsart der Trichinellen. Münch. mediz. Wochenschr. Nr. 7 vom 16. Februar 1909, S. 325.

[3]) Vermögen Darmtrichinen und wandernde Trichinen auf einen neuen Wirt überzugehen? Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene, III. Jahrg., S. 45.

im Jahre 1893 auf Grund einer Prüfung der in der Literatur angeführten Versuche darauf hingewiesen, daß in den wenigen Fällen, in denen es durch (im übrigen einwandfreie) Versuche geglückt sei, Darmtrichinen im Körper anderer Tiere zur Weiterentwicklung zu bringen, mit der Wahrscheinlichkeit gerechnet werden muß, daß die Übertragung nicht, wie die Versuchsansteller angenommen haben, durch Darmtrichinen bewirkt worden ist, sondern durch encystierte Muskeltrichinen, die in nicht verdauten, mit dem Kot entleerten Muskelstückchen enthalten waren. Ostertag hat im übrigen ebensowenig wie Pagenstecher[1]) und Kühn[2]) Darmtrichinen auf einen neuen Wirt übertragen können. Vielleicht sind in den anscheinend gelungenen Übertragungsversuchen anderer Forscher — abgesehen von der Mitverfütterung trichinöser Muskelstückchen im Darminhalt — auch andere Irrtümer untergelaufen. So denkt z. B. Stäubli an eine unbeabsichtigt gewesene Mitverfütterung kleiner, von der Fütterung mit trichinösem Material im betreffenden Käfig zurückgebliebener Muskelreste und bemerkt ferner, daß sich in der Trichinenliteratur zahlreiche Verwechslungen mit anderen Nematoden vorfinden.

Weiterhin hält es Höyberg für kaum denkbar, daß die Schweine häufig Ratten fangen und verzehren. Er ist zu dieser Ansicht infolge einer Umfrage bei einer größeren Anzahl von Schweinezüchtern gelangt. Wenn aber die befragten 46 Landwirte erklärten, nur äußerst selten beobachtet zu haben, daß Schweine Ratten fangen und verzehren, so darf daraus noch nicht ohne weiteres der Schluß gezogen werden, den Höyberg aus der Umfrage abgeleitet hat. Denn die Ratten sind so scheue Tiere, daß zu ihrer Beobachtung in der Nähe große Geduld und besondere Vorsicht erforderlich sind[3]). Freilich ist nicht anzunehmen, daß auch schwerfällige ausgemästete Schweine Ratten zu fangen vermögen. Wohl aber besteht die Möglichkeit bei den in der Mast befindlichen Läufern. Kühn, sicherlich ein zuverlässiger Forscher, der das Verhalten der Schweine nach der gedachten Richtung hin beobachtet hat, nennt diese Tiere gewandte Rattenfänger, die selbst im Zustande völliger Sättigung eine Ratte nicht verschmähen, sondern mit Gier verzehren.

Die Infektion von Schweinen durch Darmtrichinen trichinöser Artgenossen würde zur Voraussetzung haben, daß das Schweinefutter häufiger durch Kot von Schweinen

---

[1]) Die Trichinen. Leipzig 1866.

[2]) Mitteilungen aus dem landwirtschaftl. Institut zu Halle a. S. 1865.

[3]) Ein lehrreiches Beispiel hierfür beschreibt J. Böhm (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 19. Jahrg., H. 7): In einem bayerischen Städtchen fand ein Trichinenschauer bei der Untersuchung eines hausgeschlachteten Schweines in der Muskulatur Kalkeinlagerungen, die er für Trichinen hielt. Auf eine Frage des Trichinenschauers erklärte der Besitzer des Schweines, daß sich bei der (tatsächlich) vorhandenen Reinlichkeit in seinem Stalle noch nie eine Ratte gezeigt habe. Etwas ängstlich gemacht, entlieh sich der Besitzer aber doch eine Falle und betrat drei Stunden später wieder den Stall, in dem er noch ein Schwein stehen hatte. Sein Erstaunen war groß, als er die Falle zugeklappt und in ihr die Hinterfüße und den Schweif einer Ratte fand. Der übrige Körper fehlte. Es konnte nur die eine Möglichkeit bestehen, daß das Schwein bereits diesen verzehrt hatte. Der hinzugekommene Trichinenschauer erteilte dem Besitzer den Rat, von dem Tierarzt sich ein Brechmittel geben zu lassen und dies dem Schwein zu verabreichen. Dies geschah auch, und nach Verfluß kurzer Zeit wurden die tatsächlich gefressenen Teile der Ratte erbrochen.

verunreinigt würde, oder daß die Schweine die Gewohnheit hätten, im Dünger ihrer Ställe zu wühlen. Ferner müßten die Darmtrichinen nicht gar zu kurze Zeit außerhalb des Körpers ihrer Wirte lebensfähig bleiben. Was die erste Voraussetzung anbetrifft, so ist zu beachten, daß das Schwein seine Exkremente gewöhnlich an bestimmten Stellen seiner Bucht absetzt und auch den Trog nicht leicht verunreinigt. Es wird in dieser Hinsicht zu Unrecht unsauberer Gewohnheiten beschuldigt. Die Möglichkeit aber, daß Schweine Trichinen beherbergende menschliche Exkremente aufnehmen, ist bei der heutigen Haltung der Schweine so gering, daß diese Infektionsquelle außer Betracht bleiben kann. Höchstens könnte an eine Verunreinigung des Schweinefutters durch Ratten- oder Mäusekot gedacht werden. Ob eine solche in beachtlichem Umfange vorkommt, vermag ich nicht zu entscheiden, halte es aber für wenig wahrscheinlich. Was weiterhin die Lebensfähigkeit der Darmtrichinen außerhalb des Körpers ihrer Wirte anbetrifft, so ist nach den bisherigen Untersuchungen über die Biologie der Trichinen anzunehmen, daß sie in der Regel nur sehr kurz ist, wenn auch Höyberg lebende Darmtrichinen noch in vier Wochen alten, feucht aufbewahrten Fäces nachgewiesen haben will. Leuckart[1]) gibt an, daß sowohl die geschlechtsreifen Trichinen wie auch die sogenannten Trichinenembryonen schon nach 24 stündigem Verweilen im Kote zugrunde gehen. Ich habe in mehreren Fällen festgestellt, daß die Darmtrichinen längstens 48 Stunden nach dem Tode ihrer Wirte (Ratten) abgestorben waren. Im Darme verendeter Ratten pflegen die dort befindlichen Trichinen bald sich aufzurollen und bewegungslos zu werden. Nach zwei Tagen konnten bei den im Darme gestorbener Ratten befindlichen Trichinen durch Zusatz einer physiologischen Kochsalzlösung von 30 bis 40° Temperatur oder durch Einbringen des trichinenhaltigen Darminhalts in den auf 37° eingestellten Brutschrank keine Bewegungen mehr ausgelöst werden.

Zieht man alle diese Verhältnisse in Betracht, so gelangt man schon theoretisch zu dem Schlusse, daß der Darmtrichinen enthaltende Kot trichinöser Tiere für die Verbreitung der Trichinen unter den Schweinen schwerlich von erheblicher Bedeutung sein könnte, falls überhaupt Darmtrichinen von einem Tier auf das andere übertragbar wären.

Diese Annahme findet eine weitere Stütze in der Tatsache, daß die Häufigkeit der Trichinen beim Schweine mit der Einführung der Trichinenschau stark abgenommen hat, und ferner in dem verhältnismäßig häufigen Vorkommen von Trichinen bei Hunden. Würden die Trichinen bei den Schweinen durch den Kot trichinöser Tiere verbreitet werden, so würde, trotz der unschädlichen Beseitigung der in der Muskulatur von Schweinen schmarotzenden Parasiten, für die unverminderte Erhaltung der Trichinen gesorgt sein, und die Trichinenschau, durch die nur die mit Muskeltrichinen behafteten Schweine ermittelt werden, würde ohne merklichen Einfluß auf die Häufig-

---

[1]) A. a. O. S. 558. Auf Seite 563 seines Handbuches teilt Leuckart mit, daß die Embryonen einige Zeit nach dem Tode ihrer Wirte, wenn die Leiche bereits erkaltet, bewegungslos sind, daß es aber noch anderthalb Tage nach dem Tode gelingt, die Würmchen durch Erwärmen wieder beweglich zu machen.

keit des Vorkommens der Trichinen sein[1]). Ferner wäre nicht recht verständlich, daß Hunde, die doch kaum Gelegenheit haben, sich mit Darmtrichinen zu infizieren, von denen hingegen eine große Anzahl Ratten fängt und verzehrt und auf diese Weise Gelegenheit hat, Muskeltrichinen aufzunehmen, viel häufiger wie Schweine trichinös befunden werden[2]).

Alle diese Gründe sprechen für die Richtigkeit der bisherigen Annahme, daß die Trichinen auf das Schwein und auch auf den Hund durch die Aufnahme Muskeltrichinen enthaltender Ratten und vielleicht anderer Tiere übertragen werden, und gegen die Auffassung Höybergs, daß die Übertragung durch Darmtrichinen enthaltende Ausscheidungen trichinöser Tiere erfolge.

Was nun die Frage anbetrifft, ob die Exkremente trichinöser Tiere weiter entwicklungsfähige Trichinen enthalten, ob also durch solche Exkremente die Übertragung der Trichinen überhaupt möglich ist, so hat Stäubli die Versuche und die daraus gezogenen Schlüsse Höybergs einer Beurteilung unterzogen, der ich im wesentlichen zustimme. Stäubli hat insbesondere darauf hingewiesen, daß einige Versuchsangaben Höybergs so auffällig seien, daß man sich fragen müsse, ob nicht bei der Untersuchung ein Fehler vorgekommen sei, der Höyberg selbst entging. Ich konnte ebensowenig wie Stäubli die Angabe Höybergs bestätigen, daß sich am vorderen Ende des Körpers der jüngsten Trichinenlarven „eine äußerst feine, pfriemenähnliche Verlängerung“ vorfinde, die sich ununterbrochen bewege. Ein derartiges Gebilde ist auch von keinem der zahlreichen früheren Untersucher beschrieben worden. Dieser Umstand legt den Gedanken nahe, daß die Angaben, die Höyberg über das Vorkommen sogenannter Trichinenembryonen im Darme seiner Versuchstiere gemacht hat, von vornherein mit Vorbehalt aufzunehmen sind.

Stäubli hat zur Nachprüfung der Untersuchungen Höybergs folgende Versuche angestellt: Er verfütterte an eine weiße Ratte die Därme von drei andern Ratten und von zwei Meerschweinchen, die mit zahlreichen Darmtrichinen behaftet gewesen waren. Eine Entwicklung von Muskeltrichinen war aber bei der gefütterten Ratte nicht zustande gekommen. Bei einem zweiten Übertragungsversuche wurden die Därme von zwei Ratten, die wiederholt mit stark trichinösem Fleisch gefüttert worden waren, an eine andere Ratte verfüttert. Bei diesem letzteren Versuche wurden die Därme der mit Trichinenfleisch gefütterten Tiere in der Narkose entnommen und sofort körperwarm der hungernden Ratte verfüttert. Aber auch unter diesen, für eine Infektion denkbar günstigsten Verhältnissen hatten sich die in den Därmen enthaltenen Trichinen im Körper des neuen Wirtes nicht weiter entwickelt. Stäubli zieht in Übereinstimmung mit Ostertag aus seinen Versuchen den Schluß, daß eine Trichineninfektion durch in den Fäces enthaltene Darmtrichinen (oder Embryonen) nicht vorkommt.

Meine eigenen Untersuchungen über die Frage der Übertragbarkeit von Darm-

[1]) Von 100 auf Trichinen untersuchten Schweinen wurden, wie schon auf S. 109 bemerkt, trichinös befunden im Königreich Preußen 1887: 0,051 Stück, 1897: 0,019 Stück, 1907: 0,005 Stück.

[2]) Im Königreich Sachsen erwiesen sich z. B. im Jahre 1902 0,55% und im Jahre 1906 0,29% der geschlachteten beschaupflichtigen Hunde trichinös.

trichinen durch die Exkremente trichinöser Tiere habe ich in der Weise ausgeführt, daß ich zunächst den Darminhalt und den abgesetzten Kot mit trichinösem Schweinefleisch gefütterter weißer und grauer Ratten systematisch auf die Anwesenheit von Trichinen untersuchte, ferner trächtige Trichinenweibchen an weiße Ratten verfütterte, weiterhin Wandertrichinen enthaltendes Blut Mäuse verzehren ließ und endlich den Mastdarm samt Inhalt von Ratten, die trichinös gemacht worden waren, weiter verfütterte.

1. Untersuchungen von Darminhalt und Kot trichinisierter Tiere auf das Vorhandensein von Darmtrichinen.

Zwölf halbwüchsige bunte Ratten wurden am 21. und am 23. Juli 1908 mit je 5 g frischem, stark trichinösem Schweinefleisch gefüttert. In den Quetschpräparaten aus haferkorngroßen Stückchen dieses Fleisches wurden durchschnittlich eine bis drei in eine nicht verkalkte Kapsel eingeschlossene Trichinenlarven nachgewiesen. Die Versuchsratten waren während der ganzen Versuchszeit in Gläsern untergebracht und haben das ihnen vorgesetzte Fleisch stets vollständig verzehrt. Störungen ihrer Gesundheit sind hierbei nicht beobachtet worden.

Am 24. Juli wurde die erste, am 6. August die elfte von den Ratten getötet, und zwar wurde täglich eine Ratte mit Äther vergiftet, ausgenommen am 26. Juli, 2. und 4. August. Die letzte Ratte wurde zur Kontrolle erst am 12. Oktober getötet. In ihrer Muskulatur wurden eingekapselte Trichinenlarven in großer Anzahl gefunden. Das verfütterte Material hatte demnach entwicklungsfähige Trichinenlarven enthalten.

Außerdem habe ich den Inhalt des Darmes von zwei grauen Ratten, die trichinöses Fleisch erhalten hatten, auf Darmtrichinen untersucht. Die graue Ratte Nr. 1 hatte in der Zeit vom 22. bis zum 31. März 1909 etwas mehr als 75 g frisches Schweinefleisch aufgenommen, das in einem Gramm durchschnittlich 175 frisch eingekapselte Trichinen beherbergte. Von dem gleichen Fleische waren der grauen Ratte Nr. 2 vom 27. bis zum 31. März 1909 reichlich 41 g beigebracht worden. Dem einen Versuchstiere waren somit rund 13125, dem andern etwa 7175 Darmtrichinen innerhalb 10 und 5 Tagen zugeführt worden. Die eine der beiden grauen Ratten ist in der Nacht vom 1. zum 2. April, die andere in der Nacht vom 31. März zum 1. April 1909 verendet, ohne daß sich vorher Störungen ihrer Gesundheit bemerkbar gemacht hätten.

Die Untersuchung des Darminhalts der getöteten und gestorbenen Ratten erfolgte in der Weise, daß er an verschiedenen Stellen des Dünn- und Dickdarms unter Vermeidung stärkeren Drucks entnommen und auf Kompressorien, wie sie bei der Trichinenschau benutzt werden, gleichmäßig verteilt wurde. Die Präparate sind bei 35facher Vergrößerung durchmustert worden. Gebilde, die einige Ähnlichkeit mit Trichinen hatten, wurden bei stärkeren Vergrößerungen nachgeprüft. Auf diese Weise wurde ermittelt, ob damit gerechnet werden muß, daß die Exkremente trichinisierter Tiere zeitweise Trichinen oder deren Brut enthalten. Da bekannt ist, daß sowohl die männlichen wie auch die weiblichen Trichinen sich mit ihrem vorderen Ende in die Lieberkühnschen Drüsen einbohren, und daß dort das Ablegen der Brut erfolgt, so war eine künstliche Herausbeförderung der Würmer aus der Darmschleimhaut zu ver-

meiden. Es wurden aber außerdem auch von der Schleimhaut abgeschabte Teile der Darmschleimhaut auf das Vorhandensein von Trichinen geprüft. Ferner wurde nebenher das Herzblut einiger trichinisierter Ratten auf die Anwesenheit von jungen Trichinen nach der von Stäubli angegebenen Methode (Zusatz von Essigsäure, Zentrifugieren, Färben nach Giemsa[1])) untersucht. Mit den Arbeiten wurde bei den Versuchstieren alsbald nach dem Eintritt des Todes, und, falls dieser über Nacht erfolgt war, am nächsten Morgen begonnen.

Der Dünndarm der am ersten und der am zweiten Tage nach der Fütterung getöteten Ratte enthielt noch halbverdaute Muskelstückchen. Darmtrichinen wurden nachgewiesen bei der am 24., 25., 27., 28., 29., 30. Juli 1908 getöteten Ratte. Im Darme der am 31. Juli, am 1. und 6. August getöteten Ratte waren Trichinen nicht mehr nachweisbar. In der Schleimhaut des Dünndarmes fanden sich junge Trichinenlarven vor bei der am 31. Juli, am 1., 3. und 5. August 1908 getöteten Ratte. Bei der am 5. August getöteten fand ich bereits einige Trichinenlarven in der Muskulatur. Bemerkenswert ist, daß es in keinem Falle möglich war, in den im Endstücke des Mastdarms liegenden festen Kotmassen Trichinen nachzuweisen. Ferner ist zu beachten, daß die Trichinenlarven bei meinen Untersuchungen nur in der Schleimhaut gefunden wurden, und daß auch die meisten ausgewachsenen Trichinen im Darmschleim entdeckt wurden. Im hinteren Teile des Dickdarms wurden nur bei wenigen Ratten Trichinen gefunden.

Am 30. Juli habe ich den am 29. und 30. Juli abgesetzten Kot der zu dieser Zeit noch am Leben befindlichen sieben trichinisierten Ratten sorgfältig auf Trichinen untersucht, ohne daß es mir gelungen wäre, auch nur eine einzige Trichine darin zu entdecken. In den ersten Tagen nach der Fütterung der Ratten mit Muskeltrichinen war die Kotuntersuchung aus äußeren Gründen nicht möglich gewesen. Meine Befunde stehen im Einklange mit der Angabe Fiedlers[2]), daß er bei fünf trichinisierten Schweinen nicht ein einziges Mal Trichinen im Kote habe nachweisen können. Fiedler hat schon anläßlich dieser Mitteilung darauf hingewiesen, daß sämtliche Beobachter, die die Darmabgänge frisch infizierter Tiere untersucht haben, entweder gar keine — und dies war gewöhnlich der Fall, selbst wenn sehr beträchtliche Mengen trichinenhaltigen Fleisches verfüttert wurden — oder nur eine außerordentlich beschränkte Zahl von Darmtrichinen in den Darmabgängen gefunden haben; noch niemandem sei es gelungen, zahlreiche Trichinen in den entleerten Exkrementen nachzuweisen, weder bei Menschen noch bei Tieren.

Da Höyberg in den Kotmassen von Ratten, welche mit Trichinen enthaltendem Muskelfleische gefüttert worden waren, während eines längeren Zeitraumes nach der Fütterung (bis zum 10. Tage) Trichinen oft in nicht geringer Zahl gefunden haben will, liegt nach dem Ergebnis der schon früher und von mir erneut ausgeführten Versuche die Vermutung nahe, daß er eine andere Nematodenart als Trichinen angesprochen hat.

---

[1]) Klinische u. experimentelle Untersuchungen über Trichinosis u. über die Eosinophilie im allgemeinen. Deutsch. Arch. f. klin. Medizin. Bd. LXXXV.

[2]) Archiv f. Heilkunde, V. Jahrg.

2. Verfütterung trächtiger Trichinen.

Höyberg gibt an, es sei ihm gelungen, eine Ratte mit isolierten Darmtrichinen zu infizieren. Ich habe diesen Versuch in der Weise nachgeprüft, daß ich am 25. Juli 1908 sieben sich lebhaft bewegende weibliche Trichinen aus dem Darme einer durch den Genickschlag getöteten Ratte alsbald nach dem Tode ihres Wirtes mit einer geringen Menge anhaftendem Darminhalt in mit lauwarmem Wasser aufgeweichtes Weißbrot vorsichtig einpackte und diesen Brocken eine hungrige Ratte fressen ließ. Das Versuchstier hatte das Material in wenigen Minuten vor meinen Augen vollständig aufgezehrt. Die am 25. Juli getötete Ratte war am 21. und 23. Juli mit trichinigem Material gefüttert worden. Die aus den Muskeltrichinen sich im Darme entwickelnden männlichen und weiblichen Trichinen begatten sich bereits vor Ablauf des zweiten Tages. Mithin war anzunehmen, daß die verfütterten weiblichen Darmtrichinen wenigstens zum Teil schon befruchtet waren. Bei einem Teile lehrte auch der Augenschein, daß sie trächtig waren. Am 28. September 1908 wurde die mit den weiblichen Darmtrichinen gefütterte Ratte getötet und auf Trichinen untersucht. Allein in 96 haferkorngroßen Quetschpräparaten aus den verschiedensten Teilen der Muskulatur waren Trichinenlarven nicht zu entdecken. Ein am 15. Juni 1909 in gleicher Weise mit sechs weiblichen Darmtrichinen ausgeführter Versuch hatte ebenfalls einen negativen Erfolg. Es darf daher angenommen werden, daß die Darmtrichininen und ihre jüngsten Larven im Körper des neuen Wirtes zugrunde gegangen waren.

3. Fütterungsversuche mit Trichinenlarven enthaltendem Blut.

Es steht fest, daß in der Muskulatur lebende Trichinenlarven sich erst dann zu Darmtrichinen heranbilden, wenn sie ein gewisses Stadium der Entwicklung (Differenzierung der Geschlechtsorgane) erreicht haben. Die wichtigsten Versuche, durch die dieser Nachweis geführt worden ist, hat Ostertag in seiner vorerwähnten Arbeit zusammengestellt. Danach erschien es von vornherein nicht wahrscheinlich, daß eine Infektion durch Trichinenlarven im jüngsten Stadium der Entwicklung gelingen würde. Trotzdem habe ich der Vollständigkeit halber auch einen Übertragungsversuch mit einer größeren Menge von Blut einer Ratte angestellt, in deren Herzblut ich Trichinenlarven gefunden hatte. Das Rattenblut wurde etwa eine halbe Stunde nach dem Eintritt des Todes der trichinösen Ratte mit Weißbrot vermischt und an zwei weiße Mäuse verfüttert. Am nächsten Tage habe ich den Versuch mit dem Blute einer anderen Ratte noch einmal wiederholt, und zwar wurde jetzt das Blut nur wenige Minuten nach Eintritt des Todes der Ratte an zwei andere weiße Mäuse verfüttert. In beiden Versuchen haben die Mäuse das Material in wenigen Minuten verzehrt. Der erste Versuch erfolgte am 5., der zweite am 6. August 1908. Die Muskulatur der Mäuse erwies sich bei der am 15. und 23. Oktober 1908 vorgenommenen Untersuchung als frei von Trichinen.

Der Ausfall dieser beiden Versuche ist insofern von Interesse, als er die Ungefährlichkeit des Blutes von Trichinenträgern erkennen läßt. Die Versuche zeigen auch, daß junge Trichinenlarven, die aus irgend einem Zufall mit dem Kot abgehen sollten, auf einen anderen Wirt nicht übertragen werden können. Der Abgang von

sogenannten Trichinenembryonen mit dem Kote ist im übrigen wenig wahrscheinlich, weil sich die Trichinenweibchen in die Tiefe der Lieberkühnschen Drüsen einbohren und daselbst ihre Brut absetzen, die dann der Blutbahn durch die Chylusgefäße zugeführt wird.

4. Fütterungsversuche mit dem Inhalt von Därmen trichinisierter Ratten.

Erste Versuchsreihe.

1. Eine bunte Ratte erhielt am 29. Juli 1908 eine reichliche Menge ungeballten Mastdarminhalts mit aufgeweichtem Weißbrot vermischt von einer kurz zuvor getöteten Ratte, in deren hinterem Teile des Rektums lebende weibliche Trichinen nachgewiesen worden waren. Die Verfütterung geschah alsbald nach der Tötung der Darmtrichinen beherbergenden Ratte. Am folgenden Tage wurde das Versuchstier weiter mit frisch abgesetztem Kot einer Ratte gefüttert, die am 21. und 23. Juli 1908 stark trichinöses Schweinefleisch gefressen hatte und in deren Muskulatur später (am 12. Oktober 1908) Trichinenlarven in sehr großer Zahl gefunden wurden. Zum dritten Mal erhielt die Ratte am 11. August 1908 mit etwas Weißbrot eine Portion Kot einer Ratte, die am 21. und 23. Juli, außerdem auch am 5. August mit einer größeren Menge trichinösen Schweinefleisches gefüttert worden war.

Am 14. Oktober 1908 wurde die mit Darminhalt und Kot gefütterte Ratte getötet und untersucht. Ihre Muskulatur war frei von Trichinen.

2. Eine bunte Ratte erhielt am 3. August 1908 ein großes Stück lebenswarmen Dünn- und Dickdarms von einer am gleichen Tage getöteten Ratte, in deren Dünndarmschleimhaut neben weiblichen Trichinen Trichinenlarven mikroskopisch nachgewiesen worden waren. Die hungrige Ratte nahm das Material, so wie es war, in kurzer Zeit auf. Sie gebar am 10. August zwei Junge, von denen sie eines am nächsten Tage auffraß. Am 14. Oktober 1908 wurde die Ratte und ihr übrig gebliebenes Junge getötet. Beide Ratten sind trichinenfrei befunden worden.

3. Eine bunte Ratte erhielt am 27. Juli 1908 ein großes Stück Dünn- und Dickdarm mit Inhalt von einer am gleichen Tage getöteten Ratte, die zahlreiche lebende Darmtrichinen beherbergte. Das Material wurde bald nach der Tötung des Trichinenträgers entnommen und von der zweiten Ratte binnen kurzer Zeit verzehrt. Am 14. Oktober 1908 erwies sich die getötete zweite Ratte als trichinenfrei.

4. Zwei weiße Mäuse erhielten am 28. Juli 1908 in aufgeweichtes Weißbrot gepackte Kotteile aus dem Mastdarm einer Ratte, deren Dünndarmschleimhaut Trichinen in bedeutender Anzahl enthielt. Die Mäuse haben aber nur sehr wenig von diesem Materiale verzehrt. Sie wurden 8 Wochen später trichinenfrei befunden.

Zweite Versuchsreihe.

Am 1. Dezember 1908 wurden 15 bunte Ratten mit je etwa 4 g frischem trichinösem Schweinefleisch gefüttert. In fast jedem Quetschpräparat aus haferkorngroßen Stückchen dieses Fleisches ließen sich eingekapselte, nicht verkalkte Trichinenlarven nachweisen, in manchen Präparaten wurden zwei, drei oder vier Würmer gefunden.

Vom 2. Dezember an ist täglich eins von diesen Versuchstieren getötet worden, und zwar geschah dies bei den ersten drei Ratten durch Einatmenlassen von Äther, bei den übrigen durch Stirnschlag. Zu der letzteren Tötungsart bin ich namentlich deswegen übergegangen, um den Tod der Ratten möglichst schnell herbeizuführen und um etwaige Einwirkungen des Äthers auf die Trichinen im Darme zu vermeiden. Von den mit Fleisch gefütterten Ratten wurde eine (Nr. 15) zur Kontrolle länger am Leben gelassen. Sogleich nach dem Eintritt des Todes eines mit encystierten Trichinenlarven infizierten Tieres wurde ein etwa 6 cm langes Stück des hinteren Teiles des Dickdarmes mit Inhalt zerstückelt, in mit lauwarmem Wasser aufgeweichtes Weißbrot gepackt und an je eine weitere bunte Ratte verfüttert. Die Fütterung der letzten Ratte (Nr. 1) erfolgte am 15. Dezember. Es wurde in allen Fällen festgestellt, daß die in Gläsern untergebrachten Ratten das Material vollständig verzehrt hatten.

Am 15. Dezember ist die am 3. Dezember mit Dickdarm gefütterte Ratte eingegangen, ohne daß sie vorher Krankheitserscheinungen gezeigt hätte. Bei der Obduktion wurden ein Leberabszeß, Peritonitis adhaesiva und Trübung des ganzen Bauchfells festgestellt. Die Ursache dieser Erkrankung war nicht zu ermitteln.

Am 9. Dezember ist die Ratte eingegangen, die am 7. Dezember Darmteile einer trichinisierten Ratte erhalten hatte. Grobsinnliche Veränderungen wurden an dem Kadaver nicht nachgewiesen. Im Blute fanden sich Trypanosomen vor.

Im Darm und in der Muskulatur der beiden eingegangenen Ratten waren weder geschlechtsreife Trichinen noch Trichinenlarven vorhanden.

Am 11. Februar 1909, also etwa 10 Wochen nach der versuchten Infektion, wurde mit der Tötung und Untersuchung der übrig gebliebenen Ratten begonnen; die letzte Ratte wurde am 26. Februar in Arbeit genommen. Von jeder Ratte wurden mindestens 60 haferkorngroße Muskelstückchen zwischen den Gläsern eines Kompressoriums zu Quetschpräparaten verarbeitet und hiernach sorgfältig durchmustert. Dabei wurden in der Muskulatur keiner einzigen Ratte Trichinenlarven nachgewiesen.

Am 27. Februar 1909 ist die Kontrollratte Nr. 15 getötet worden. Sie wurde stark trichinös befunden, so daß erwiesen ist, daß für die Übertragungsversuche mit Därmen und Darminhalt infektionsfähiges Material verwendet worden war.

Im ganzen habe ich mithin 14 Versuche ausgeführt, Ratten durch Verzehrenlassen von Darminhalt und Kot, der geschlechtsreife Trichinen und Trichinenlarven tatsächlich enthielt oder enthalten konnte, trichinös zu machen. In keinem Fall ist es möglich gewesen, die Parasiten im Körper eines neuen Wirtes zur Weiterentwicklung zu bringen, obwohl die Bedingungen hierfür weit günstiger waren, als sie sich unter gewöhnlichen Verhältnissen zu gestalten pflegen. Denn unter natürlichen Verhältnissen kommt nur die Aufnahme von Kot in Frage, der viel seltener und viel spärlicher Trichinen enthält als der nicht entleerte Darminhalt; ferner würde auch in praxi nicht mit der Aufnahme ganz frisch abgesetzten Kotes zu rechnen sein, sondern von älteren Exkrementen, die lebende Trichinen nicht beherbergen.

Aus den von mir ausgeführten Untersuchungen ergibt sich in Übereinstimmung mit früheren Feststellungen, daß für die Übertragung der Trichinen von Tier auf Tier nur in einem vorgeschrittenen Stadium der

Entwicklung befindliche Muskeltrichinen in Betracht kommen, und daß den Exkrementen von Tieren, die Träger von geschlechtsreifen Trichinen sind, eine Bedeutung für die Verbreitung der Trichinose **nicht** beizumessen ist. Der Umstand, daß der Kot gelegentlich einzelne in unverdaute Muskelteilchen eingeschlossene Trichinen enthalten kann, verdient bei der Bekämpfung der Trichinen nicht berücksichtigt zu werden. Denn es kann nur als ein besonderer Zufall betrachtet werden, wenn einmal durch derartige mit dem Kot abgegangene Muskelstückchen eine Übertragung der Trichinen auf andere Tiere stattfindet.

II. Untersuchungen über die Arterhaltung der Trichine.

Wie schon angeführt, hat Stäubli die Rolle, die man bisher den Ratten als Trichinenträgern zugeschrieben hat, in Zweifel gezogen. Er knüpft an die Tatsache an, daß Trichinen am häufigsten bei Abdeckereiratten nachgewiesen worden sind, wesentlich seltener bei aus Schlächtereien stammenden und noch viel seltener bei Ratten aus anderen Gehöften. Diese Feststellung scheine, sagt Stäubli, darauf hinzudeuten, daß das Schwein die eigentliche Trichinenquelle ist, eine Ansicht, die s. Z. schon von Zeuker vertreten worden ist. Weiter führt er aus: „Frißt eine Ratte trichiniges Schweinefleisch, so bleibt sie meist am Leben und erwirbt Muskeltrichinellen[1]), weil das Schweinefleisch selten so stark trichinig ist, um in der Menge, die auf einmal aufgenommen wird, den Tod der Ratte an Darmtrichinose herbeizuführen. Hat die Ratte trichiniges Fleisch aufgenommen, so enthält sie nun meist sehr zahlreiche Muskeltrichinellen. Wird einer Ratte trichiniges Rattenfleisch vorgelegt, so frißt sie nach der Erfahrung so viel, daß sie (falls das Fleich nur einigermaßen zahlreiche Trichinellen enthält, was meist der Fall ist) unfehlbar an Darmtrichinose zugrunde geht. Wird der Kadaver nun von einem Schweine oder einer Ratte gefressen, so vermögen die Darmtrichinellen nicht zu infizieren, die Generationsfolge ist unterbrochen. Wird aber jenes trichinige Rattenfleisch, an dem die Ratte stirbt, von einem Schweine aufgefressen, so bleibt das Schwein am Leben und entwickelt nun tausendfältig junge Brut.“ Ferner spricht nach Stäublis Ansicht der Umstand, daß seit Einführung der Trichinenschau die Häufigkeit der Trichinen beim Schweine abgenommen hat, für die Annahme, daß das Schwein der Hauptträger und Arterhalter der Trichine sei.

Die Stäublische Theorie, die dem Vorkommen der Trichinen bei den Ratten nur eine untergeordnete, weil zeitlich begrenzte Rolle zuspricht, hat auf den ersten Blick viel Bestechendes. Sie vermöchte, wenn sie richtig wäre, namentlich jene, nicht in die alte „Rattentheorie“ passenden Fälle zu erklären, in denen in Gehöften mit trichinösen Schweinen trichinöse Ratten völlig vermißt werden. Über einen solchen Fall hat Fiedler[2]) schon in den sechziger Jahren berichtet, und von Johne[3]) ist auf

[1]) Stäubli wendet mit Rücksicht auf die neue zoologische Bezeichnung „Trichinella spiralis“ das Wort „Trichinelle“ an. Nach meinem Dafürhalten liegt jedoch kein zwingender Grund vor, das deutsche, geschichtlich begründete und allgemein eingebürgerte Wort „Trichine“ durch „Trichinelle“ zu ersetzen.

[2]) Archiv f. klin. Medizin I. Bd.

[3]) Deutsche Zeitschrift f. Tiermedizin u. vergleichende Pathologie XI. Bd.

ein derartiges Vorkommnis erneut hingewiesen worden. Diese Fälle könnten als eine ausgezeichnete Illustration dafür angesehen werden, daß in den Gehöften die trichinösen Ratten, die zur Infektion der Schweine Anlaß gegeben haben, zu der Zeit bereits ausgestorben waren, als die durch die Ratten infizierten Schweine geschlachtet und trichinös befunden wurden. Johne war schon auf Grund der erwähnten von ihm gemachten Beobachtung sehr geneigt, eine gegenseitige Infektion der Schweine, ohne Vermittelung der Ratten, lediglich durch trichinenhaltige Darmabgänge vom Schwein anzunehmen. Fälle wie die angeführten lassen sich jedoch auch anders erklären. Die Rolle von Verbreitern der Trichinen können anstatt der Ratten die Mäuse gespielt haben. Darauf werde ich noch zurückkommen. Hier möchte ich nur bemerken, daß nach meiner Ansicht verschiedene, gewissermaßen epidemiologische Tatsachen gegen die Richtigkeit der Stäublischen Theorie sprechen. Wenn Stäubli Recht hätte, so würden trichinöse Ratten nur noch in großen Abdeckereien und in großen Schlächtereien anzutreffen sein. Denn in kleineren Anlagen solcher Art würden die Ratten bei der Seltenheit der Trichinen unter den Schweinen (z. B. 1 trichinöses Schwein z. Z. unter 20000 nichttrichinösen im Königreich Preußen) doch nur ganz ausnahmsweise einmal Gelegenheit haben, trichinöses Schweinefleisch zu verzehren. Ein Unterschied zwischen dem Prozentsatz der in großen und in kleinen Abdeckereien trichinös befundenen Ratten hat sich aber bislang nicht ergeben. Dazu kommt, daß für eine Infektion der Ratten mit Muskeltrichinen ein beträchtlicher Teil der trichinösen Schweine, nämlich die stark trichinösen[1]), für eine Infektion überhaupt nicht in Betracht kommen würden, weil Stäubli der Meinung ist, daß die Ratten nach der Aufnahme einer bedeutenden Menge von stark trichinigem Fleisch an Darmtrichinose zugrunde gehen, so daß lediglich die mit geringeren Mengen von Trichinen behafteten Schweine zu einer Infektion der Ratten führen würden. Somit müßten Funde von Trichinen bei Ratten außerhalb der großen Abdeckereien und Schlächtereien äußerst selten sein. Nun ist aber bekannt, daß die Trichinose auch bei den Ratten in anderen Gehöften gelegentlich massenhaft vorkommt. So führt z. B. Leuckart[2]) an, daß unter den Ratten in anatomischen Instituten (Gießen, Halle) förmliche Trichinenepidemien beobachtet worden sind. Hier können allerdings trichinöse Leichen eine häufigere Infektionsquelle abgegeben haben. Ferner zeigt die Statistik von Genersich[3]), daß auch in Mühlen Trichinen bei Ratten gehäuft vorkommen. Endlich ist aus der Häufigkeit der Trichinenfunde bei in Gerbereien gemästeten Schweinen zu entnehmen, daß auch hier, wie in Abdeckereien, Trichinen bei den Ratten häufige Parasiten sind. In Müllereien und in Gerbereien haben aber die Ratten keine besondere Gelegenheit zur Aufnahme trichinösen Schweinefleisches. Das gehäufte Auftreten in Örtlichkeiten

[1]) Nach der Trichinenschaustatistik der städtischen Fleischbeschau in Berlin waren

1889/90	von 292	trichinösen	Schweinen	101	stark	trichinös,
1893/94	„ 122	„	„	89	„	„
1896/97	„ 192	„	„	108	„	„
1902	„ 48	„	„	21	„	„

[2]) A. a. O. S. 604.

[3]) Beitrag zur Ätiologie der Trichinosis. Orvosi hetilap 1891 Nr. 41; Ref. im Zentralbl. f. klin. Mediz. 1892 Nr. 31.

der genannten Art wird wohl nur durch das scharenweise Zusammenleben der Ratten an Stellen, wo sich reichliche Nahrung für diese Schädlinge findet, herbeigeführt. Die Generationserhaltung der Trichinen bei den Ratten daselbst dürfte nur in der Weise zu erklären sein, daß die gestorbenen trichinösen Tiere von ihren Artgenossen verzehrt werden.

Der Unschädlichmachung der im Schweinefleische schmarotzenden Trichinenlarven muß sicher ein wesentlicher Einfluß auf den Rückgang der Trichinenfunde bei geschlachteten Schweinen zugeschrieben werden. Es erscheint aber doch zweifelhaft, ob dieser Rückgang so stark gewesen wäre, wenn nicht infolge verschiedener neuzeitlicher hygienischer Einrichtungen, wie des Baues öffentlicher Schlachthöfe, der die Schließung Tausender von privaten Schlächtereien im Gefolge hatte, und der Verbesserung der Abdeckereianlagen, ferner durch die mehr und mehr Platz greifende massive Bauart der Schweineställe und durch die planmäßige Ausrottung der Ratten mit Gift und Fallen die Existenzbedingungen der Ratten an zahlreichen Orten allmählich ungünstiger geworden wären, so daß die Schweine nicht mehr in dem Grade wie früher Gelegenheit haben, trichinöse Ratten zu verzehren. Auch der Umstand, daß die Schweine heutzutage im allgemeinen bereits mit 7 bis 10 Monaten, also in einem weniger hohen Alter als früher zur Schlachtung gelangen, mag mit dazu beigetragen haben, daß trichinöse Schweine jetzt seltener gefunden werden, obwohl die Technik der Trichinenschau mehr und mehr vervollkommnet worden und die mikroskopische Untersuchung des Schweinefleisches auf Trichinen an Ausdehnung gewonnen hat. Es sei hier erwähnt, daß Blome[1]) festgestellt hat, daß von 10 im Kreise Arnsberg während eines Zeitraumes von 12 Jahren entdeckten trichinösen Schweinen die Hälfte Mutterschweine waren, obwohl letztere nur in geringer Zahl geschlachtet wurden. Dies hängt nach Ostertag zweifellos damit zusammen, daß die Mutterschweine von allen Schweinen das höchste Lebensalter erreichen und somit am häufigsten Gelegenheit zur Aufnahme der Trichinen durch Verzehren von Ratten haben.

Entscheidend für die Beurteilung der Frage, ob die Ratte als Generationserhalter der Trichinen von erheblicher Bedeutung ist, ist der Grad der Empfindlichkeit dieses Nagers gegenüber dem Schmarotzertum der Trichinen. Die Angaben Stäublis über diesen Punkt haben mich veranlaßt, durch Versuche zu prüfen, ob die Ratten in der Tat so leicht, wie Stäubli annimmt, der Aufnahme stark trichinösen Fleisches erliegen, so daß es bei ihnen bei Aufnahme stärker trichinösen Fleisches nur zur Entwicklung von Darmtrichinen, nicht aber zur Einwanderung von Trichinenlarven in die Muskulatur kommt. Stäubli gibt an, daß nach seinen Erfahrungen die Ratte namentlich dann leicht an Trichinose sterbe, wenn sie in kurzer Zeit eine größere Menge stark trichinösen Fleisches verzehre, wie das beim Auffressen eines trichinösen Artgenossen der Fall sei, während sie dieselbe Gesamtmenge vertrage, wenn diese über mehrere Tage verteilt verabreicht werde.

Bei Fütterungsversuchen an wilden grauen Ratten, die zu den natürlichen Wirten

[1]) Nach Ostertag, Handbuch der Fleischbeschau, 5. Aufl. Stuttgart 1904 S. 433.

der Trichinen gehören, ist eine Eigentümlichkeit dieser Tiere sehr zu beachten, wenn man nicht zu Trugschlüssen gelangen will. Die grauen Ratten halten nämlich im allgemeinen die Gefangenschaft schlecht aus. Sogar die im Käfig geborenen und an diesen gewöhnten gehen leicht ein, wenn sie in einen engen Raum gebracht werden, wenn man ihnen die Gelegenheit sich zu verbergen entzieht, und wenn man sie bedeutende Mengen Fleisch verzehren läßt. Für graue Ratten ist der Aufenthalt in einem großen Raume oder in der Freiheit eine ebenso wichtige Lebensbedingung wie für zahlreiche andere wild lebende heimische Tiere, z. B. Hasen, wilde Kaninchen, Spitzmäuse, Wiesel, Habichte, Sperber und Sperlinge. Freilich gibt es unter allen diesen Tieren einzelne Ausnahmeindividuen, die die Gefangenschaft längere Zeit aushalten, ohne daß ein Grund hierfür erkennbar wäre. Jedenfalls muß man aber bei jeder im Käfig gehaltenen grauen Ratte damit rechnen, daß sie plötzlich den Schädigungen der Gefangenschaft unterliegt. So ist mir beispielsweise in der Nacht vom 1. zum 2. April 1909 eine von vier in einem sehr geräumigen Käfige gehaltenen, nicht im Versuche befindlichen wilden Ratten nach neuntägiger Gefangenschaft eingegangen, ohne daß sich das Tier vorher krank gezeigt hätte; bei der Obduktion stellte sich heraus, daß die Ratte sehr gut genährt und frei von jeglichen krankhaften Veränderungen der Organe war. Zwei andere in je einem Käfige von 27 cm Breite und Tiefe gehaltene frisch eingefangene graue Ratten verweigerten Futter und Getränk und waren am 4. und 5. Tage der Gefangenschaft verendet (Ergebnis der Obduktion negativ). Unter diesen Umständen sind die Fälle, in denen mit trichinösem Fleisch gefütterte, in Käfigen gehaltene wilde Ratten eingehen, für die Beurteilung der Frage, ob diese Tiere der Trichineninvasion gegenüber besonders empfindlich sind, von minderer Bedeutung wie jene Fälle, in denen es gelungen ist, wilde Ratten am Leben zu erhalten, die bedeutende Mengen von trichinösem Fleisch verzehrt haben.

Im übrigen möchte ich bemerken, daß nach meiner Ansicht eine in der Freiheit lebende Ratte selten erhebliche Quantitäten von Fleisch eines trichinösen Artgenossen aufzunehmen Gelegenheit haben wird. Denn die Ratten leben gesellig, und wenn eine trichinöse Ratte eingeht, teilt sich wohl immer eine größere Anzahl anderer Ratten in den Kadaver, so daß auf das einzelne Tier nur eine unbedeutende Menge von der trichinenhaltigen Muskulatur entfallen dürfte. Jedenfalls müssen etwa 30 g trichinenhaltiger Muskulatur als eine sehr große Tagesportion für eine ausgewachsene wilde Ratte gelten. Von meinen in einem großen Käfige gehaltenen kräftigen grauen Ratten hat keine an einem Tage mehr als 30 g aufgenommen; meist verzehrten die Tiere, auch wenn sie gehungert hatten, erheblich geringere Quantitäten.

Über die Wirkungen der Verfütterung trichinösen Fleisches auf die Gesundheit von Ratten geben folgende Beobachtungen Aufschluß.

1. Eine in der Gefangenschaft geborene graue Ratte (Nr. 1) wurde am 22. 3. 09 in einen kleinen Käfig (Drahtkäfig von 16 cm Höhe und je 27 cm Breite und Länge) gesetzt und mit stark trichinösem frischem Schweinefleisch (Fleisch A) gefüttert. Ein Gramm dieses Fleisches beherbergte im Durchschnitt 175 frisch eingekapselte Trichinenlarven. Von diesem Fleische hatte das Versuchstier verzehrt

vom 22.—23. 3. . . . . . . 5 g
„ 23.—24. 3. . . . . . . 5 „
„ 24.—25. 3. . . . . . . 10 „ (dazu etwas Weißbrot),
„ 25.—30. 3. . . . . . . 27 „ „ „ „
„ 30. 3. bis 1. 4. . . . . . 10 „ „ „ „

In der Nacht vom 1. zum 2. April ist die Ratte, ohne vorher Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, verendet. Bei der Obduktion fanden sich Veränderungen am Darme oder an anderen inneren Organen nicht vor. Im Darme waren Trichinen in großer Zahl vorhanden.

2. Eine eingefangene graue Ratte (Nr. 2), die zunächst einige Tage in einem geräumigen Käfige mit anderen Ratten gehalten worden war, wurde am 27. 3. 09 in ein Glas von 40 cm Höhe und 22 cm Durchmesser gesetzt und mit Stückchen des Fleisches A gefüttert. Dieses war zur Frischerhaltung oberflächlich mit einer Mischung von Borsäure und Kochsalz eingerieben und im Eisschrank aufbewahrt worden; jedoch wurde nur Fleisch aus den tieferen Schichten des Stückes verfüttert, so daß das verfütterte Fleisch wesentliche Mengen von dem Konservierungsmittel nicht enthielt. Die Ratte verzehrte

vom 27. 3. bis 30. 3. . . . . . 41 g,
am 31. 3. nur Spuren.

Am 1. 4. wurde die Ratte, die bis dahin anscheinend ganz munter war, im Käfige tot aufgefunden. Ihr Darm beherbergte zahlreiche Trichinen. Krankhafte Veränderungen waren am Kadaver nicht zu erkennen.

3. Eine eingefangene graue Ratte (Nr. 3) wurde in einem Käfige von je 1 m Länge und Breite zunächst etwa 14 Tage allmählich an die Gefangenschaft und an Fleischkost gewöhnt. Dann wurde ihr, nachdem sie 48 Stunden gehungert hatte, stark trichinöses Fleisch vorgelegt (Fleisch B). In einem Gramm von diesem Materiale waren durchschnittlich rund 200 Trichinenlarven enthalten. Sie nahm davon auf

vom 20. 4. bis 22. 4. . . . . 40 g,
am 23. 4. . . . . . . etwa 5 „
„ 24. 4. . . . . 20 „
vom 25. 4. bis 26. 4. . . . . 20 „

Die Ratte konnte zunächst auf ihren Gesundheitszustand nicht beobachtet werden, weil sie sich tagsüber in dem im Käfig befindlichen Heu verborgen hielt. Am 17. Mai zeigte das Tier steifen Gang, die Bewegung verursachte ihm offenbar Schmerzen. Diese Erscheinung nahm von Tag zu Tag zu; am 21. Mai war die Ratte kaum noch dazu zu veranlassen, sich von der Stelle zu bewegen. Am 22. Mai, also 32 Tage nach der erstmaligen, 26 Tage nach der letzten Aufnahme des trichinösen Schweinefleisches wurde die Ratte tot im Käfige aufgefunden. Ihre Muskulatur enthielt Trichinenlarven in sehr großer Anzahl. Im übrigen waren an dem Kadaver krankhafte Veränderungen nicht nachzuweisen.

Demnach ist das Versuchstier der Muskeltrichinose erlegen.

4. Am 22. 4. wurden einer in dem vorn beschriebenen Glase untergebrachten grauen, an die Gefangenschaft gewöhnten Ratte (Nr. 4) 40 g Fleisch B zur Auf-

nahme vorgelegt. Davon hat das Versuchstier am 23. 4. nichts gefressen, am folgenden Tage ungefähr 30 g. Darauf erhielt die Ratte ein frisches Fleischstück im Gewichte von 20 g, das am 26. April vollständig verzehrt war.

Am 26. 4. wurde die Ratte aus dem Glase herausgenommen und zu der Ratte Nr. 3 in den großen Käfig gesetzt. Krankheitserscheinungen sind bei dem Tiere zunächst nicht beobachtet worden. Dieses Tier hat, damit es sein Bedürfnis nach Getränk gehörig befriedigen konnte, täglich eine kleine Portion in Wasser aufgeweichtes Weißbrot erhalten.

Am 1. Juni zeigte die Ratte die gleichen Bewegungsstörungen wie die graue Ratte Nr. 3. Ihr Zustand verschlechterte sich fortwährend; am 4. und 5. Juni vermochte sie sich nur noch mühsam zu bewegen. Am 6. Juni (43 Tage nach der ersten, 41 Tage nach der zweiten Fütterung) trat der Tod ein. Befund wie bei Ratte Nr. 3 (Todesursache: Muskeltrichinose).

5. Eine weiße Ratte (Nr. 5), die in einem großen Kaninchentopfe untergebracht war, fraß von dem Fleische B

vom 21. zum 22. 4. . . . . . 20 g,
„ 23. „ 24. 4. . . . . . 20 „
„ 24. „ 25. 4. . . . . . 15 „

6. Eine weiße Ratte (Nr. 6), die am 21. 4. 09 in einen Kaninchentopf gesteckt war, verzehrte von dem Fleische B

vom 21. zum 22. . . . etwa 5 g,
„ 23. „ 24. . . . „ 15 „
„ 24. „ 25. . . . „ 10 „

Auch die beiden weißen Ratten haben während der Dauer des Fütterungsversuchs Krankheitserscheinungen nicht bekundet.

Daß die Ratte Nr. 1 und die Ratte Nr. 2 infolge der Trichineninvasion eingegangen sind, erscheint mir bei dem Fehlen entzündlicher Erscheinungen im Bereiche des Darmes nicht wahrscheinlich. Ich bin der Ansicht, daß die Tiere der Gefangenschaft erlegen sind, und schließe darauf namentlich aus der Beobachtung, daß in meinen Versuchen auch eine wilde Ratte bei Fütterung mit nichttrichinösem, frischem Schweinefleisch in dem Käfige, in dem Ratte Nr. 1 untergebracht worden war, nur 17 Tage am Leben erhalten werden konnte (der Käfig war vor der Neubesetzung sterilisiert worden). Diese Ratte zeigte vom 7. Tage der Gefangenschaft ab keine Freßlust mehr. Auch bei ihr war das Obduktionsergebnis vollständig negativ. Höchstens kann, da die mit trichinösem Fleisch Nr. 1 und 2 gefütterten Ratten schon nach 9 und 4 Tagen gestorben sind, gefolgert werden, daß die Trichineninvasion den Gefangenschaftstod beschleunigt hat.

Aus den mitgeteilten Versuchen dürfte hervorgehen, daß die Ratten keineswegs die von Stäubli angenommene hohe Empfindlichkeit gegenüber der Invasion von Darmtrichinen besitzen — die Aufnahme von nicht weniger als 6000 entwicklungsfähigen Trichinenlarven an einem Tage wurde von einer Ratte gut vertragen —, und daß deshalb für die

Ansicht von Stäubli, die Ratten seien für die Generationserhaltung der Trichinen ohne praktische Bedeutung, die Prämisse fehlt.

Daß die Ratten zu den Erhaltern der Trichinen gehören, scheint mir — abgesehen von den bereits angeführten Gründen — auch daraus hervorzugehen, daß die Hunde sehr häufig, viel häufiger wie die Schweine, mit Trichinen behaftet befunden werden (vgl. S. 113), und daß auch gelegentlich in der Muskulatur von Iltissen Trichinen entdeckt worden sind. Hunden ist wohl nur äußerst selten Gelegenheit gegeboten, trichinöses Schweinefleisch aufzunehmen. Dagegen fängt ein Teil der Hunde Ratten und frißt sie auch. Vom Iltis ist bekannt, daß er ein grimmiger Feind der Ratten ist[1]). Ferner läßt sich das Vorkommen von Trichinen bei wildlebenden Tieren, wie beim Dachs, Fuchs, Wildschwein, Marder, kaum durch die Aufnahme trichinösen Schweinefleisches erklären.

Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß manche Fälle von gehäuftem Auftreten von Trichinen bei Schweinen den Verdacht erwecken, daß außer den Ratten auch die Mäuse als Träger von Trichinenlarven Beachtung zu verdienen scheinen. Nach Leuckart[2]) haben diese kleinen Nager als Trichinenträger nur in sofern einige Bedeutung, als die Möglichkeit vorliegt, daß die Trichinen aus den Leichen der infizierten Mäuse wieder in die Ratten und durch deren Vermittelung in die Schweine übergehen. Leuckart ist der Meinung, daß die Mäuse bei dem Kreislauf der Trichinen deswegen eine viel beschränktere Rolle wie die Ratten spielen, weil sie mehr auf eine vegetabilische Ernährung angewiesen sind. Nach der Ansicht dieses Forschers geben die Mäuse nur selten unmittelbar zur Infektion der Schweine mit Trichinen Veranlassung. Dagegen sagen Fröhner[3]) sowie Hutyra und Marek[4]), daß die Schweine durch Ratten und auch durch Mäuse Trichinen erwerben können.

Über das Vorkommen von Trichinen bei Mäusen sind bisher Untersuchungen in größerem Maßstabe nicht angestellt worden. Rupprecht[5]) hat einmal in einem Trichinengehöfte gefangene Ratten und Mäuse untersucht und Trichinen „ziemlich zahlreich" bei einzelnen Ratten und Mäusen gefunden. Daß letztere keineswegs selten mit Trichinen behaftet sind, ist aus den Funden dieser Parasiten bei Tieren zu folgern, die in der Freiheit leben und als Mäusevertilger bekannt sind, wie beim Wildschwein, Fuchs, Dachs, Igel, Marder, Hamster[6]). Das verhältnismäßig häufige Auftreten von Trichinenlarven bei Wildschweinen ist allgemein bekannt und hat Anlaß zur Einführung des Trichinenschauzwanges für das Fleisch von Wildschweinen gegeben. Hinsichtlich anderer in der Freiheit lebender Trichinenwirte hat z. B. Virchow[7]) mitgeteilt, daß er bei einem Igel und bei einem Iltis zahlreiche Trichinen-

[1]) Vgl. Schäff, Nutzen und Schaden des Raubzeugs für die Jagd. Deutsche Jäger-Zeitung v. 22. IV. 1909 S. 101; ferner Schäffs Jagdtierkunde, Berlin 1907 S. 251.

[2]) Die menschlichen Parasiten, Bd. II. S. 609.

[3]) Friedberger u. Fröhner, Lehrb. d. spez. Pathol. u. Therapie der Haustiere. 7. Aufl. Bd. II S. 597.

[4]) A. a. O. S. 853.

[5]) Berliner Klin. Wochenschr., II. Jahrg. Nr. 51.

[6]) Vgl. Schäff, a. a. O.

[7]) Virchows Archiv, Bd. 36 S. 149, desgl. Bd. 35 S. 201.

larven gesehen habe, und daß Füchse verhältnismäßig oft ziemlich stark trichinös befunden wurden. Johne[1]) erwähnt einen Fall von einer Trichineninfektion von Schweinen durch Verfütterung des Fleisches geschossener Füchse. Ferner verdient Beachtung eine Mitteilung von Schmaltz[2]) über zwei Fälle von Trichinose bei Menschen durch den Genuß von Dachsfleisch, die darauf schließen lassen, daß der Dachs stark trichinös sein kann. Eine Infektion mit Ratten- oder Schweinefleisch kommt für die vorstehend genannten Tierarten so gut wie gar nicht in Betracht, weil sie sich nicht an Orten aufhalten, an denen Ratten leben. Daß die Mäuse als Arterhalter der Trichinen eine bedeutende Rolle spielen können, ergibt sich daraus, daß diese Nager (wie viele andere Tiere, z. B. Meerschweinchen, Kaninchen, Schweine) die Fütterung mit stark trichinösem Fleisch sehr gut vertragen, und daß tote Mäuse, wie die Laboratoriumserfahrung lehrt, von überlebenden nicht selten an- und aufgefressen werden.

Mithin erfordert die Bekämpfung der Trichinen, abgesehen von der Trichinenschau, die in erster Linie zur Verhütung der Trichinose des Menschen dient, die Ausrottung der Ratten und der Mäuse in solchen Gehöften, in welchen die Infektion von Schweinen durch Trichinen nachgewiesen worden ist. An Orten, an denen eine ständige Gefährdung der Schweine durch trichinöse Ratten und Mäuse anzunehmen ist, wie in Großschlächtereien, Gerbereien und namentlich in Abdeckereien, würde die Haltung von Schweinen grundsätzlich zu unterlassen sein. In verschiedenen Landesteilen Deutschlands[3]) und Österreichs sind entsprechende Anordnungen hinsichtlich der Abdeckereien bereits behördlicherseits getroffen worden.

[1]) Der Trichinenschauer, 9. Aufl. S. 50.

[2]) Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1899 S. 171.

[3]) So z. B. für die preußischen Regierungsbezirke Gumbinnen (Landespolizeil. Anordn. v. 7. 7. 1887), Danzig (v. 13. 6. 1896), Potsdam (v. 15. 11. 1893), Erfurt (v. 6. 9. 1906), Lüneburg (v. 30. 4. 1900), ferner für Baden (v. 3. 5. 1900), Anhalt (v. 9. 6. 1900), Bremen (v. 30. 4. 1906). — Vgl. auch „Zeitschr. f. Fleisch u. Milchhygiene, V. Bd. S. 141.

Über den Einfluß des Stickstoffs auf die Haltbarkeit des Fleisches, nebst Beiträgen zur Bakteriologie der Fleischfäulnis.

Von

Dr. Wilhelm Lange, ständigem Mitarbeiter und **Dr. Kurt Poppe**, wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Der als Fäulnis bezeichnete Zerfall tierischer und pflanzlicher Körper ist ein biochemischer Vorgang, der darauf beruht, daß infolge der Lebenstätigkeit von Mikroorganismen ein Abbau der komplizierter zusammengesetzten Bestandteile in einfachere stattfindet. Die Fäulnis der eiweißärmeren Vegetabilien, z. B. der Früchte, die durch Schimmelpilze verschiedener Art hervorgerufen wird, steht im Gegensatz zu der Fäulnis der eiweißreichen tierischen Gewebe, z. B. des Muskelfleisches, die durch die als „Fäulnisbakterien" bezeichneten zahlreichen Spaltpilzarten verursacht wird. Als Zerfallsprodukte der faulenden Eiweißkörper ist eine äußerst große Anzahl verschiedenartiger, teils stickstoffhaltiger, teils stickstoffreier Verbindungen nachgewiesen worden, von denen die wichtigeren in den nachstehenden fünf Gruppen aufgeführt sind.

1. Albumosen und Peptone. 2. Amidokörper: Glykokoll, Leucin, Amidostearinsäure, Asparaginsäure, Tyrosin. 3. Aromatische Verbindungen: Indol, Skatol, Phenol, Kresole, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Paraoxyphenylessigsäure, Hydroparacumarsäure. 4. Fett- und Oxyfettsäuren: Ameisen-, Essig-, Butter-, Valerian-, Bernstein-, Milch-, Palmitinsäure. 5. Einfachere Endprodukte der Fäulnis: Wasserstoff, Stickstoff, Methan, Kohlensäure, Ammoniak, Schwefelwasserstoff.

Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Fäulnisprodukte eiweißreicher Körper ist nicht immer gleich; sie hängt ab von den äußeren Bedingungen, z. B. der Temperatur, der Beschaffenheit des Materials, in erster Linie jedoch von den jeweils bei der Fäulnis vorherrschenden Bakterienarten. Im allgemeinen wird jedoch angenommen, daß gewisse Produkte regelmäßig auftreten; auf ihrem Vorhandensein beruhen die bei der Nahrungsmittelkontrolle angewandten chemischen Methoden zur Erkennung und zum Nachweise der Fleischfäulnis. Bei dem Verfahren von Baumann und Hoppe-Seyler[1]) wird auf die Anwesenheit von aromatischen

[1]) Vergl. Vereinbarungen zur einheitl. Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln usw. Heft I S. 34.

Oxysäuren, Indol, Skatol und Phenolen geprüft, bei einem von W. Eber[1]) angegebenen Prüfungsverfahren wird die Fleischfäulnis an der Gegenwart von Ammoniak erkannt.

Es ist von verschiedenen Forschern beobachtet worden, daß gewisse Gase einen mehr oder weniger hemmenden Einfluß auf die Entwicklung der Fäulnisbakterien ausüben, und es sind auch zahlreiche Verfahren zum Konservieren von frischem Fleisch vorgeschlagen worden, die darauf beruhen, daß die Luft in den Aufbewahrungsgefäßen entfernt und durch andere Gase, z. B. Kohlensäure und Stickstoff, ersetzt wird[2]). Aus Anlaß eines gegebenen Falles war die Frage experimentell zu prüfen, ob und inwieweit der Eintritt der Fäulnis durch Einschließen des Fleisches in eine Stickstoffatmosphäre beeinflußt wird. Die Kenntnisse der Biologie der in Betracht kommenden Mikroorganismen sprechen gegen eine hemmende Wirkung des Stickstoffs auf die Fleischfäulnis und machen es vielmehr wahrscheinlich, daß die Lebenstätigkeit dieser Organismen — da es sich in erster Linie um Anaerobier handeln soll — durch die reine Stickstoffatmosphäre angeregt wird.

Die Anordnung der zur Entscheidung der Frage ausgeführten Versuche war folgende: durch ein luftdicht abgeschlossenes Gefäß, in dem das Fleisch freischwebend aufgehängt war, wurde, nachdem die Luft durch Stickstoff verdrängt worden war, ununterbrochen ein sehr langsamer Strom von Stickstoff geleitet. Das Durchleiten des Gases hatte einen doppelten Zweck; einerseits verhinderte es, daß infolge irgend einer Undichtigkeit des Gefäßes Luft von außen eindringen konnte, andererseits gestattete es, durch Prüfung der mit dem Stickstoff austretenden gasförmigen Zersetzungsprodukte objektiv festzustellen, wann im Verlaufe des Versuchs die ersten chemisch nachweisbaren Zeichen der Fäulnis auftraten.

Die Einrichtung des verwendeten Apparates ist aus Fig. 1 ersichtlich.

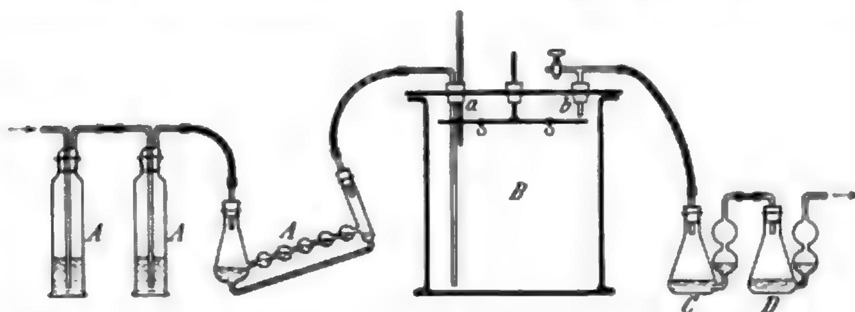


Fig. 1. Apparat zur Prüfung der Wirkung von Stickstoff auf Fleisch.

Zu der vorstehenden Zeichnung seien noch einige Erläuterungen gegeben. Da der in komprimiertem Zustande in Stahlflaschen in den Handel gebrachte Stickstoff fast immer mit geringen Mengen Sauerstoff verunreinigt ist, und auf eine möglichst weitgehende Abwesenheit dieses Gases Wert gelegt werden mußte, so wurden

---

[1]) Archiv für wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 17 Heft 3, Bd. 18 Heft 1—2 u. Bd. 19 Heft 1—2.

[2]) Plagge und Trapp, Die Methoden der Fleischkonservierung. Berlin 1893.

zwischen die Stahlflasche mit Stickstoff und das zur Aufbewahrung des Fleisches dienende Gefäß die drei mit A bezeichneten Waschapparate eingeschaltet, die als Absorptionsmittel für Sauerstoff eine Lösung von Kaliumpyrogallat in geeigneter Konzentration enthielten. Zur Unterbringung des Fleisches diente das zylindrische Glasgefäß B, das einen Durchmesser von 30 cm und eine Höhe von 40 cm hatte. Es wurde verschlossen mit einer aufgeschliffenen und mittels Vaselin abgedichteten starken Glasplatte, die mit drei für die Aufnahme von Kautschukstopfen geeigneten Durchbohrungen versehen war. In der mittleren war eine Vorrichtung zum Aufhängen des Fleisches befestigt; die beiden äußeren dienten zum Ein- und Ausleiten des Stickstoffs. Bei a war neben dem Einleitungsrohre ein Thermometer angebracht. Das bei b befestigte Ausleitungsrohr war T-förmig gestaltet, um den aus B entweichenden Gasstrom zwecks Prüfung auf seinen Geruch sowie auf Anwesenheit von Sauerstoff in eine andere Richtung als durch die Apparate C und D, die zur Absorption von Ammoniak und Schwefelwasserstoff dienten, leiten zu können. Der Absorptionsapparat C enthielt verdünnte Schwefelsäure von bekanntem Titer, D eine Lösung von Bleiacetat.

Es wurden zwei Versuche angestellt, einer mit einem frisch geschlachteten Meerschweinchen, der andere gleichzeitig mit einem Stück käuflichen Rind- und Schweinefleisch, bei denen die äußeren Schichten in einer Dicke von etwa 1 cm unter aseptischen Kautelen entfernt worden waren, um hinsichtlich des Keimgehaltes der Proben die für die Konservierung des Fleisches günstigsten Verhältnisse zu schaffen. Jeder Versuch zerfiel in zwei Abschnitte:

1. Die chemische Prüfung des entweichenden Gases auf Ammoniak und Schwefelwasserstoff sowie die Feststellung der äußereren Beschaffenheit des Fleisches,
2. die bakteriologische Untersuchung des Fleisches vor und nach der Aufbewahrung im Stickstoff.

Der Verlauf der Versuche, soweit sie in dem beschriebenen Apparate vorgenommen wurden, war folgender: Nachdem das Fleisch in das mit einer Sublimatlösung keimfrei gemachte Gefäß B gebracht und dieses geschlossen worden war, wurde zum Verdrängen der Luft aus dem Gefäße zunächst ein möglichst schneller Strom von Stickstoff durch die Apparate A und das Gefäß B hindurch geleitet, und, sobald die Abwesenheit von Sauerstoff in dem bei b austretenden Gase festgestellt worden war, der Gasstrom erheblich verlangsamt. Sodann wurden die Absorptionsapparate C und D durch das Rohr b mit dem Gefäß B verbunden. Nach Verlauf von jedesmal 24 Stunden wurde ein Befund aufgenommen, der sich auf die Prüfung des Aussehens des Fleisches, des Geruches des austretenden Gases, sowie dessen Gehalt an Ammoniak und Schwefelwasserstoff erstreckte. Die Temperatur wurde mittels des bei a in das Gefäß B eingeführten Thermometers gemessen und schwankte bei den Versuchen zwischen 16° und 20° C. Die Einzelheiten des Verlaufs der beiden Versuche sind aus der nachstehenden Übersicht ersichtlich:

Tabelle

Versuch 1 (ausgeschlachtetes Meerschweinchen).

Befund nach Tagen	Bildung von		Geruch des aus dem Gefäß B entweichenden Gases	Aussehen des Fleisches	Temperatur in B	
	Ammoniak	Schwefelwasserstoff			morgens °C.	abends °C.
1	Nicht nachweisbar	Nicht nachweisbar	Normal	Unverändert	18,8	19,0
2	Desgl.	Desgl.	Desgl.	Etwa $^1/_3$ der Oberfläche des Fleisches war mit Schimmelpilzen bedeckt	18,9	19,0
3	Desgl.	Desgl.	Deutlicher Geruch nach beginnender Fäulnis	Der Schimmelüberzug hatte sich vermehrt	19,1	19,2
4	Desgl.	Desgl.		Eine Vermehrung des Schimmelüberzuges war nicht wahrnehmbar	mittags 16,8	
5	Desgl.	Deutlich zu erkennen	Von Tag zu Tag zunehmender Fäulnisgeruch	Der Schimmelüberzug war infolge Zusammenfallens nicht mehr erkennbar	17,4	
6	Desgl.	Desgl.		Die Farbe des Fleisches war auch am 6. Tage unverändert	16,2	16,2

Faßt man die in der Tabelle verzeichneten wichtigeren Einzelheiten zusammen, so ergibt sich folgendes: Auf dem Fleische des Meerschweinchens entwickelten sich im Verlauf von 2 Tagen in reichlicher Menge Schimmelpilzrasen, die sich nach 3 Tagen weiter vermehrt hatten, später aber zusammenflossen und sich auf die Oberfläche des Fleisches legten, so daß sie nicht mehr deutlich hervortraten. Nach 3 Tagen war auch bereits Fäulnisgeruch wahrnehmbar, der sich mehr und mehr steigerte; Schwefelwasserstoff wurde nach 5 Tagen beobachtet, ebenso die Bildung zahlreicher Gasbläschen auf der Fleischoberfläche. Ammoniak trat merkwürdigerweise nicht auf. Der nach Verlauf von je 24 Stunden geprüfte Inhalt der Vorlage C zeigte weder eine Abnahme des Säuretiters, noch war qualitativ die Anwesenheit von Ammoniak nachweisbar. Bemerkenswert ist auch, daß sich die ursprünglich frischrote Farbe während des Versuchs nicht geändert hat.

Der Versuch mit Rind- und Schweinefleisch nahm bis auf die nachstehenden Abweichungen denselben Verlauf: Die Entwicklung von Schwefelwasserstoff trat er-

1.

Versuch 2 (Rind- und Schweinefleisch).

Befund nach Tagen	Bildung von		Geruch des aus dem Gefäß B entweichenden Gases	Aussehen des Fleisches	Temperatur in B	
	Ammoniak	Schwefelwasserstoff			morgens °C.	abends °C.
1	Nicht nachweisbar	Nicht nachweisbar	Normal	Unverändert	19,2	19,8
2	Desgl.	In geringen Mengen vorhanden	Schwach nach Schwefelwasserstoff	Desgl.	19,8	19,6
3	Desgl.	In reichlichen Mengen vorhanden	Fäulnisgeruch	Desgl.	19,7	19,9
4	Desgl.	Desgl.		Desgl.	19,3	19,4
5	Desgl.	Desgl.	Von Tag zu Tag zunehmender Fäulnisgeruch	Desgl.	19,5	19,7
6	Desgl.	Desgl.		Desgl.	19,1	19,3

heblich früher und zwar schon nach 2 Tagen ein. Schimmelpilzkulturen bildeten sich bei diesem Versuche nicht.

Der Meerschweinchenkadaver wurde, nachdem er im ganzen 14 Tage in der Stickstoffatmosphäre gehangen hatte, nochmals auf seine äußere Beschaffenheit geprüft. Das Fleisch hatte seine ursprünglich hellrote Farbe, ähnlich der des frischen Kalbfleisches, behalten und verbreitete einen an sog. stickiges oder verhitztes Wildbret erinnernden Geruch. Die Muskulatur war mit Gasblasen durchsetzt. Das Binde- und Fettgewebe zeigte eine gelblichweiße Farbe. Die Reaktion des Muskelfleisches war gegen Lackmuspapier amphoter (schwach alkalisch und etwas stärker sauer). Bei dem Rind- und Schweinefleisch wurde die Prüfung auf äußere Beschaffenheit nach 6 Tagen vorgenommen. Das Rindfleisch war hellrot, an der Oberfläche etwas feucht und mit einigen Gasblasen bedeckt. Das intermuskuläre Bindegewebe zeigte gelblichrote Farbe; die Reaktion war sowohl an der Oberfläche, wie in der Tiefe schwach sauer. Das Schweinefleisch war blaßrot; Gasblasen waren nicht vorhanden. Das

Bindegewebe ließ hinsichtlich der Farbe keine Besonderheiten erkennen; die Reaktion war an der Oberfläche und in der Tiefe sauer.

Die bakteriologische Untersuchung erstreckte sich auf die Bestimmung des Keimgehaltes des Fleisches vor dem Verbringen in den Stickstoffraum und nach Herausnahme aus ihm. Eine genaue quantitative Bestimmung des Keimgehaltes wurde aus dem Grunde nicht vorgenommen, weil es zunächst nur darauf ankam, festzustellen, ob Stickstoff überhaupt entwicklungshemmend auf die im Fleisch befindlichen Mikroorganismen wirkt. Im zweiten Teil dieser Arbeit, der sich mit der Bakteriologie der Fleischfäulnis im allgemeinen beschäftigt, wird auf die quantitativen Verhältnisse näher eingegangen werden.

I. Meerschweinchenversuch.

Von dem nach vorheriger Betäubung mittels Genickschlages durch Verblutenlassen getöteten Meerschweinchen wurden sofort nach der Abhäutung und Herausnahme der Eingeweide Proben von verschiedenen Körperstellen unter sterilen Kautelen entnommen und zwar: 1. vom Unterhautgewebe der Schulter, 2. von der Pleura costalis, 3. aus der Tiefe der Muskulatur. Das Material wurde zu Plattenkulturen verarbeitet. Nachdem diese 2 Tage im Brutschrank bei 37° gehalten worden waren, ergab sich, daß die Serien 1 und 3 steril geblieben waren, während die Serie 2 auf der Platte der ersten Verdünnung 8 Einzelkolonien erkennen ließ. Durch mikroskopische Untersuchung wurde festgestellt, daß diese sich aus zwei verschiedenen Keimarten zusammensetzten: gramnegativen Kurzstäbchen, die z. T. in Fäden gelagert waren, und grampositiven Kokken. Da nach den Untersuchungen Zahns[1]), v. Fodors[2]) u. a. im Gewebe gesunder Tiere bei der gewöhnlichen Art der Untersuchung Keime nicht nachzuweisen sind, was durch die Platten der Serien 1 und 3 bestätigt wurde, so mußte in diesem Falle angenommen werden, daß die Pleura costalis entweder beim Herausnehmen der Eingeweide oder durch Luftkeime infiziert worden war.

Um den Keimgehalt nach der 14tägigen Aufbewahrung des Meerschweinchenkadavers im Stickstoffraum zu bestimmen, wurden Proben von der Oberfläche des Brustfells (Pleura costalis) und nach vorherigem Abbrennen aus der Tiefe der Muskulatur entnommen und mittels Plattenverfahrens verarbeitet. Die hierdurch isolierten Keime sollen im folgenden nur insoweit eingehender besprochen werden, als sie in irgend einen ursächlichen Zusammenhang zur Fleischfäulnis zu bringen sind. Die in großer Menge aufgefundenen Kokken, bei denen ein solcher Zusammenhang nicht anzunehmen ist, werden nur kurz Erwähnung finden.

Durch Reinzüchtung teils bei Sauerstoffanwesenheit, teils in der Wasserstoffatmosphäre (Botkinscher Apparat) wurden acht sich auf der Platte different zeigende Stäbchen isoliert, von denen 7 — 5 anaerob, 2 aerob isolierte — auf Grund ihrer

[1]) Zahn, Untersuchungen über das Vorkommen von Fäulniskeimen im Blute gesunder Tiere. Virchows Archiv Bd. 95 S. 401. 1884.

[2]) v. Fodor, Bakterien im Blute lebender Tiere. Arch. f. Hyg. Bd. 4 S. 129.

morphologischen und kulturellen Merkmale[1]) zur Proteusgruppe (Bact. vulgare Lehm. et Neum.) gerechnet werden mußten, wobei sich die anaerob gezüchteten als fakultative Anaerobier erwiesen. Zwei von den genannten 7 Stämmen stellten den typischen Proteus mit Milchgerinnung und Indolbildung sowie starker Verflüssigung der Gelatine unter Bildung übelriechender Gase dar und waren, wenn man die ursprünglich von Hauser[2]) zur Unterscheidung der einzelnen Proteusarten angegebene Einteilung als berechtigt anerkennt, als Proteus vulgaris Hauser (B. saprogenes Rosenbach) zu bezeichnen, während die 5 übrigen Stämme mit den genannten zwar die Verflüssigung der Gelatine gemeinsam hatten, sich aber von ihnen durch das Fehlen der Indolbildung und Milchgerinnung unterschieden. Sie dürften jedoch trotzdem zur Proteusgruppe zu zählen sein, da eine große Anzahl von proteusartigen Bakterien Kulturverschiedenheiten aufweist (vergl. Weber[3]), Meyerhof[4]). — Ein Stamm wurde infolge seiner typischen biologischen Eigentümlichkeiten als Bac. subtilis diagnostiziert. Die einzige isolierte Kokkenart war ein die Gelatine nicht verflüssigender, hämolysierender Streptococcus.

Der Kadaver, der nach Herausnahme aus der Stickstoffatmosphäre noch einen Tag bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, ließ nach dieser Zeit ein rasches Fortschreiten der Zersetzung erkennen, die sich besonders durch Schmierigwerden der Oberfläche der Muskulatur, sowie durch grünliche Verfärbung des Binde- und Fettgewebes und amphotere, teilweise schwach alkalische Reaktion auszeichnete.

II. Versuch mit Rind- und Schweinefleisch.

Vom Fleischer bezogenes frisches Rindfleisch (von dunkelroter Farbe, fettarm, Reaktion schwach sauer) und Schweinefleisch (von hellroter Farbe, mit mäßig reichlichem Fettgewebe durchsetzt, Reaktion gleichfalls schwach sauer) wurde vor dem Verbringen in die Stickstoffatmosphäre auf seinen Keimgehalt untersucht. Hierbei wurde aus dem Rindfleisch der Mikro- (Staphylo-) coccus albus (Oberfläche und Tiefe des Fleisches) und aureus (Tiefe), sowie der sporentragende Bac. subtilis isoliert, während aus dem Schweinefleisch ein schwach hämolysierender Streptococcus von der Oberfläche und das Bact. proteus Zenkeri — die nach Hauser Gelatine nicht verflüssigende Art des Bact. proteus — aus der Tiefe gezüchtet werden konnte.

Um bei den weiteren Versuchen Verunreinigungen des Fleisches durch Luftkeime möglichst auszuschalten, wurden, wie schon erwähnt, die äußeren Schichten beider Fleischstücke in Stärke von 1 cm mittels steriler Instrumente abgetragen, worauf das Fleisch in den Stickstoffraum verbracht wurde. Da ausgesprochene Fäulniserschei-

---

[1]) Die Bestimmung der Keime wurde im wesentlichen nach folgenden Lehrbüchern vorgenommen:

Flügge, Die Mikroorganismen. Leipzig 1896.

Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1907.

Matzuschita, Bakteriologische Diagnostik. Jena 1902.

[2]) Hauser, Über Fäulnisbakterien und deren Beziehung zur Septikämie. Leipzig 1885.

[3]) Weber, Über die Gruppe des Bac. proteus vulgaris. Med. Diss. Straßburg 1903.

[4]) Meyerhof, Über einige biologische und tierpathogene Eigenschaften des Bac. proteus (Hauser). Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 28 S. 18. 1898.

nungen in kürzerer Zeit als beim Meerschweinchenversuch auftraten, sind die beiden Fleischstücke schon nach 6tägiger Aufbewahrung der Stickstoffatmosphäre entnommen und der weiteren Untersuchung unterworfen worden. Der hierbei ermittelte Befund über die äußere Beschaffenheit ist oben bereits mitgeteilt worden (S. 131).

Die durch das Plattenverfahren teils unter aeroben, teils unter anaeroben Bedingungen isolierten Bakterien waren folgende:

im Rindfleisch

1. auf der Oberfläche: Bac. subtilis und Bac. fluorescens liquefaciens (Flügge),
2. in der Tiefe: Bact. putidum non liquefaciens (Flügge) und Bact. aerogenes (acidi lactici), bez. Bact. coli anindolicum (Matzuschita);

im Schweinefleisch

1. auf der Oberfläche: Bact. lactis aerogenes (acidi lactici) und Bact. proteus vulgare,
2. in der Tiefe: spärlich wachsende, nicht hämolysierende Kokken.

Auch in diesem Falle konnten keine obligaten Anaerobier isoliert werden; denn der aus dem Rindfleisch unter Anaerobiose gezüchtete Bac. subtilis und das Bact. lactis aerogenes sowie die im Schweinefleisch enthaltenen Kokken ergaben bei Sauerstoffanwesenheit gleichfalls gutes Wachstum.

III. Kontrollversuch.

Um festzustellen, ob ein Unterschied im Keimgehalt und in der Art der Keime zwischen in Stickstoffatmosphäre oder unter gewöhnlichen Verhältnissen gehaltenem Fleisch besteht, wurde frisches Rind- und Schweinefleisch, aus dem sich ausschließlich Kokken (Strepto- und Staphylokokken) züchten ließen, bei genügendem Luftzutritt im Abzug freihängend aufbewahrt. Nach 5 Tagen wiesen beide Fleischstücke eine dunkelrote Verfärbung ihrer Oberfläche und geringgradigen Fäulnisgeruch auf; die ursprünglich saure Reaktion der Oberfläche war in eine schwach alkalische umgeschlagen. Nachdem die Fleischstücke 7 Tage im Abzug gehangen hatten, waren beide auffallend stark geschrumpft und verbreiteten den für die animalische Fäulnis charakteristischen putriden Geruch. Das Rindfleisch zeigte harte Konsistenz, dunkel- bis schwarzrote Farbe und an mehreren Stellen Zerfall in eine formlose, penetrant riechende Masse. An der dem Licht abgekehrten Seite hatte sich ein dichtes Schimmelpilzmyzel entwickelt; die Reaktion der Oberfläche war schwach alkalisch, die der Tiefe amphoter. Das Schweinefleisch war dunkelrot und in der Umgebung des Fett- und Bindegewebes grünlich verfärbt, mit Gasblasen durchsetzt und hatte einen stinkenden Geruch angenommen. Schimmelpilzbildung war gleichfalls wahrnehmbar; die Reaktion war amphoter mit der Besonderheit, daß die Tiefe stärker sauer als alkalisch reagierte.

Zu dieser Zeit, wo die für die Fäulnis typischen Erscheinungen — Auftreten eines üblen Geruchs und Zerfall — auf ihrem Höhepunkt angelangt waren, konnten aus dem Rind- und Schweinefleisch zahlreiche Stäbchen, die dem Bact. proteus vulgare bez. proteus Zenkeri und dem Bact. fluorescens liquefaciens ähnlich waren, sowie mehrere Kokkenarten, meist vom Typus des Micrococcus albus und candicans, isoliert werden.

Faßt man das Ergebnis der vorstehenden Versuche zusammen, so zeigt sich, daß der Stickstoff auf die Haltbarkeit von frischem Fleisch keinen Einfluß ausübt. Dies läßt sowohl die Prüfung der für die Fäulnis besonders charakteristischen gasförmigen Zersetzungsprodukte, als auch die Art der vorherrschenden Bakterienflora erkennen. Bei der chemischen Untersuchung war bereits nach kurzer Zeit neben den ausschließlich durch den Geruch erkennbaren flüchtigen Stoffen Schwefelwasserstoff in erheblicher Menge nachweisbar. Auffallend ist die Tatsache, daß Ammoniak und andere flüchtige Basen selbst bei der weit vorgeschrittenen Zersetzung des Fleisches im Stickstoffraum unter den gasförmigen Produkten nicht vorhanden waren. Das Fehlen dieser Verbindungen ist der Hauptunterschied der Fäulnis in einer Stickstoffatmosphäre gegenüber einer solchen bei Anwesenheit von Luft. Im übrigen ergab die bakteriologische Untersuchung keinen Unterschied in der relativen Menge und in der Art der Keime zwischen dem in dem Stickstoffraum und dem unter gewöhnlichen Verhältnissen bei Luftzutritt aufbewahrten Fleisch. In beiden Fällen wurden Bakterien der Proteusgruppe, der Bac. subtilis und koliähnliche Bakterien neben zahlreichen Kokkenarten nachgewiesen. Obligat anaerobe Keime waren weder bei dem in der Stickstoffatmosphäre noch bei dem unter gewöhnlichen Verhältnissen faulenden Fleisch nachzuweisen. Die Tatsache, daß bei dem Versuche mit dem Meerschweinchenkadaver einerseits und dem mit Rind- und Schweinefleisch andrerseits ein Unterschied hinsichtlich der Schnelligkeit des Eintretens der Fäulnis auftrat, dürfte ihre Erklärung darin finden, daß das Meerschweinchen sofort nach der Tötung unter besonderen Vorsichtsmaßregeln verarbeitet und vor Infektion mit Luftkeimen möglichst geschützt wurde, während sich das dem Handel entnommene Rind- und Schweinefleisch schon vor dem Verbringen in den Stickstoffraum als stark keimhaltig erwies.

Im Anschluß an vorstehende Untersuchungen wurde vergleichsweise die Frage geprüft, welche Mikroorganismen bei der natürlichen Fäulnis des Fleisches gefunden werden. Hierbei handelte es sich ausschließlich darum, die in den verschiedenen Stadien der Fleischfäulnis vorkommenden Bakterienarten unter möglichster Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse zu bestimmen und ihr kulturelles Verhalten zu prüfen.

Die eingehendste Beschreibung und Erklärung der Fäulniserscheinungen gibt Gotschlich[1]), der erklärt, daß die spontane Fäulnis verschieden ist je nach den zufällig anwesenden Bakterien und deren jeweils vorhandenen Existenzbedingungen. Die spontane Fäulnis stellt sich hiernach gewöhnlich als eine fast regellose, von nicht übersehbaren Einzelbedingungen abhängige Folge von Umsetzungen dar, die durch die verschiedensten und in ganz verschiedener Weise wirksamen Bakterienarten hervorgebracht wird. Als solche kommen in Betracht der Bac. saprogenes I, II, III, Bac. coprogenes foetidus, Proteus, Bac. pyogenes foetidus, Micrococcus foetidus, Bac. ureae,

[1]) Gotschlich, Kapitel „Fäulnis“ in dem Werke von Flügge, Die Mikroorganismen S. 254. Leipzig 1896.

Bac. fluorescens putidus, Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. butyricus, der obligat anaerobe Bac. putrificus coli und andere. Seine ursprüngliche Ansicht, daß die faulige Gärung animaler Stoffe sowohl durch obligat anaerobe, als auch durch aerobe Bakterien hervorgerufen werden kann, berichtigt Gotschlich[1]) in einer späteren Monographie über die Fäulnis dahin, daß die eigentliche stinkende Fäulnis nur bei Beschränkung oder Abschluß des Luftzutrittes stattfinde und durch anaerobe Bakterien eingeleitet werde, während die zufällig im Nährsubstrat befindlichen aeroben Keime den Fäulnisprozeß dann weiter fortsetzen.

Die Auffassung der übrigen, die Fäulnis im allgemeinen behandelnden Arbeiten geht auseinander. Die einen weisen den aeroben, die anderen den obligat anaeroben Mikroorganismen ausschließlich die Fähigkeit zu, das Eiweißmolekül unter Bildung gasförmiger, übelriechender Produkte zu zerlegen. Zu der zuerst genannten Ansicht bekennen sich Hauser (a. a. O.), Kuhn[2]), Schrank[3]), Nowiasky[4]) u. a., die den Bazillen der Proteusgruppe die ursächliche Bedeutung für die Fäulnis zuschreiben (Nowiasky bezeichnet den Bac. proteus als typischen Stickstoffvergärer, „Fleischfresser"). Straßmann und Strecker[5]) berichten über einen durch Fäulniseigenschaften ausgezeichneten Bac. albus und citreus cadaveris, der ebenfalls der Proteusgruppe zuzurechnen ist. Die andere Meinung, daß nur die obligat anaeroben Bakterien befähigt sein sollen, Fäulniserscheinungen hervorzurufen, vertreten Nencky[6]), Kerry[7]), Bovet[8]), Rettger[9]), Salus[10]) und vor allem Bienstock. Im Jahre 1884 war es Bienstock[11]) gelegentlich seiner Studien über die Darmbakterien gelungen, einen Köpfchensporen bildenden Bazillus, den obligat anaeroben Bac. putrificus coli, zu züchten, den er als den spezifischen Erreger der Eiweißzersetzung ansah. Durch weitere Untersuchungen konnte Bienstock[12]) dann feststellen, daß sein Bac. putrificus coli bei streng anaeroben Bedingungen imstande ist, Fibrin unter Bildung charak-

[1]) Gotschlich, Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, Bd. I S. 108.

[2]) Kuhn, Morphologische Beiträge zur Leichenfäulnis. Archiv für Hygiene, Bd. 13 S. 40. 1891.

[3]) Schrank, Untersuchungen über den im Hühnerei die stinkende Fäulnis bewirkenden Bacillus. Medizin. Jahrbücher 1888, Nr. 6 S. 303 (ref. nach Kuhn[2]).

[4]) Nowiasky, Über die Umsetzung von Aminosäuren durch Bac. proteus vulgaris. Archiv für Hygiene, Bd. 66 S. 209. 1908.

[5]) Straßmann und Strecker, Bakterien bei der Leichenfäulnis. Zeitschr. f. Medizinalbeamte 1888, Nr. 3.

[6]) Nencky, Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweißes durch anaerobe Spaltpilze. Sitzungsbericht d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch., Wien 1889 (ref. nach Bienstock[11]).

[7]) Kerry, Über die Zersetzung des Eiweißes durch die Bazillen des malignen Oedems. Wiener Monatshefte f. Chemie, Bd. 10, 1889 (ref. nach Bienstock[11]).

[8]) Bovet, Des gaz produits par la fermentation anaerobienne. Annal. de micrographie 1890, Nr. 7 (ref. nach Bienstock[11]).

[9]) Rettger, Weitere Untersuchungen über Fäulnis. Yale University. Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Referate, Bd. 40 S. 353.

[10]) Salus, Zur Biologie der Fäulnis. Archiv f. Hygiene, Bd. 51 S. 97. 1904.

[11]) Bienstock, Über Bakterien der Fäces. Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. 8 S. 1. 1884.

[12]) Derselbe, Untersuchungen über die Ätiologie der Eiweißfäulnis. Archiv f. Hygiene, Bd. 36 S. 335. 1899.

teristischer Stoffwechselprodukte zum Zerfall zu bringen, wobei zu bemerken war, daß Bact. coli und lactis aerogenes auf den Bac. putrificus antagonistisch wirken und dessen fäulniserregende Tätigkeit erschweren oder verhindern. Bienstock hebt in dieser Arbeit hervor, daß seine Befunde nur für die Fibrinfäulnis zu gelten haben und auf die tierische Fäulnis im allgemeinen nicht anzuwenden sind. In einer späteren Abhandlung verallgemeinert indessen Bienstock[1]) seine Ansicht dahin, daß der Bac. putrificus coli nicht nur Fibrin, sondern auch Eiweiß im allgemeinen zersetze und als spezifischer Erreger der Darmfäulnis anzusehen sei.

Von Untersuchungen über die Fleischfäulnis ist noch folgendes zu erwähnen: Beu[2]), Tumpowsky[3]) und Marxer[4]) fanden neben Kokkenarten vor allem den Bac. proteus. Marxer, der genanntem Bacillus die Eigenschaft zuschreibt, Eiweiß direkt angreifen und zersetzen zu können, macht auch Angaben über den zeitlichen Ablauf der Fleischfäulnis, indem er drei Perioden der Bakterieninvasion unterscheidet (zuerst Kokken, dann Bact. coli und zuletzt, vom Auftreten der amphoteren Reaktion an, Proteus). Auch die Befunde von Kraus[5]), der teils festwachsende, teils Gelatine verflüssigende Bakterienformen aus rohem Fleisch züchtete, dürften auf die Proteusgruppe zu beziehen sein. Sanfelice[6]) gelang es, aus Fleischinfusen Proteusarten und den Bac. subtilis sowie Köpfchensporen bildende Anaerobier zu isolieren, während sich nach den Untersuchungen von Ottolenghi[7]) neben Bac. subtilis der Bac. mesentericus vulgatus, fuscus und ruber, Bac. candicans, Micrococcus albus liquefaciens, candicans, luteus und aurantiacus nach ihrem Verhalten auf eiweißhaltigen Substanzen (u. a. auch auf Fleisch) als mehr oder weniger starke Fäulniserreger erwiesen haben sollen.

Besonders zu erwähnen ist noch eine Arbeit von Tissier und Martelly[8]), die eingehende Untersuchungen über die bei der spontanen Fleischfäulnis isolierten Bakterienarten mit besonderer Berücksichtigung ihrer chemischen Leistungen angestellt haben. Da diese Arbeit in der deutschen Literatur wenig bekannt ist, so dürfte eine

---

[1]) Bienstock, Bac. putrificus. Annal. de l'Inst. Pasteur 1906, Nr. 5 p. 407. Referat Hygien. Rundschau 1907, S. 1239.

(Vergl. denselben Autor: Untersuchungen über die Ätiologie der Eiweißfäulnis II. Milchfäulnis usw. Archiv f. Hygiene, Bd. 39 S. 390. 1901. — Anaérobies et Symbiose. Annal. de l'Inst. Pasteur, T. 16 No. 12. Referat in Baumgartens Jahresbericht 1903, S. 855.)

[2]) Beu, Einfluß des Räucherns auf die Fäulniserreger. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 8 S. 513. 1890.

[3]) Tumpowsky, Von der bakteriologischen Untersuchung des Fleisches in den Läden und Fleischbänken von Lodz. Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt.-Krankh., Bd. 37 S. 278. 1901.

[4]) Marxer, Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes und der Haltbarkeit des Fleisches bei gewöhnlicher Aufbewahrung. Straßburg 1903.

[5]) Kraus, Über die Bakterien des rohen Genußfleisches. Blätter f. gerichtl. Med. u. San.-Pol., 1890, Heft 5. Referat in der Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene, 1890/91, Heft 5.

[6]) Sanfelice, Contributo alla biologia e morfologia dei batteri saprogeni aerobi e anaerobi. Atti della Acad. Med. di Roma, Anno XVI, Serie II, Vol. V. Ref. im Zentralbl. f. Bakt., Bd. 9 S. 57.

[7]) Ottolenghi, Über die Fäulnisbakterien im Blute des menschlichen Leichnams. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med., 3. Folge, Bd. IV, Suppl.-Heft S. 9.

[8]) Tissier et Martelly, Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. Annal. de l'Inst. Pasteur 1902, No. 12 p. 865.

nähere Besprechung gerechtfertigt erscheinen. Auf Grund der von den Fleischfäulnis-Bakterien gebildeten Fermente teilen sie diese Bakterien ein: 1. in solche, die gemischte Fermente produzieren (sowohl Kohlehydrate, wie Eiweißstoffe angreifende) und 2. in solche, die nur einfache (echte) Fermente ausscheiden (ausschließlich Eiweiß zerlegende). Beide Arten von Fermenten werden hinsichtlich ihrer Einwirkung auf die natürlichen Eiweißkörper in proteolytische, d. h. Eiweiß direkt zersetzende, und in peptolytische, d. h. Eiweiß erst nach Spaltung in Peptone angreifende, unterschieden. In betreff des Ablaufes der Fleischfäulnis konnten Tissier und Martelly zwei Phasen feststellen. In der ersten Phase treten Bakterien auf, die gemischt proteolytische und peptolytische Fermente (les protéolytiques et les peptolytiques mixtes) bilden und sowohl die Kohlehydrate zersetzen, als auch das Eiweiß angreifen. Die Peptone werden gespalten, wobei Ammoniak entsteht, der für die Neutralisation oder Alkalisation des Nährbodens notwendig ist. Die zu dieser Zeit gefundenen Bakterien waren von Anaerobiern Bac. perfringens (Fränkel) und Bac. bifermentans n. sp., sowie unter den Aerobiern und fakultativen Anaerobiern Bact. proteus vulgare, Bact. coli, Bac. filiformis aerobius n. sp., Streptococcus flavus liquefaciens (Flügge) und Diplococcus griseus non liquefaciens n. sp. Die zweite Phase der Fleischfäulnis kennzeichnet sich durch das Vorherrschen der rein proteo- und peptolytische Fermente bildenden Bakterien („les protéolytiques vrais et les peptolytiques"), die die Zersetzung des Eiweißes und seiner letzten Abbauprodukte beendigen. Als solche kommen in Betracht von Anaerobiern: der Bac. putrificus coli (Bienstock), Bac. putidus gracilis n. sp. und Diplococcus magnus anaerobius n. sp. sowie das aerobe Bact. proteus Zenkeri.

Über den quantitativen Keimgehalt des rohen Fleisches finden sich nähere Angaben in den Arbeiten von Stroscher[1]), der in frisch vom Fleischer bezogenem Hackfleische durchschnittlich gegen 18 Millionen Keime im Gramm zählte, während Marxer (a. a. O.) annimmt, daß Fleisch schon an der Grenze der frischen und zersetzten Beschaffenheit steht, wenn mehr als eine Million Keime im Gramm enthalten sind. Dieser bedeutende Unterschied in den ermittelten Keimzahlen erklärt sich dadurch, daß Marxer den Keimgehalt der Tiefe von größeren unzerlegten Fleichstücken (ganzen Gliedmaßen) untersuchte, während Stroscher mit Hackfleisch, das dem Handel entnommen wurde und durch die Art seiner Herstellung der Verunreinigung mit Bakterien in hohem Grade ausgesetzt ist, arbeitete.

Zu unseren weiteren Untersuchungen über die Fleischfäulnis wurde vom Fleischer bezogenes, handwerksmäßig verarbeitetes Rindfleisch verwandt, das angeblich nach der Schlachtung drei Tage im Eisschrank aufbewahrt worden war. Nachdem zunächst der Keimgehalt der Oberfläche und der Tiefe bestimmt worden war, wurde das Fleisch bei genügendem Luftzutritt freihängend der natürlichen Fäulnis überlassen (Temperaturdurchschnitt 12° C) und der Keimgehalt nach 2, 4 und 10 Tagen festgestellt. Die hierbei angewandte Technik war folgende: Von dem mittels steriler Instrumente abgeschabten Fleisch wurde Material mit ausgeglühter, auf 0,002 g geeichter Platinöse entnommen und in 20 ccm steriler Bouillon in Erlenmeyerkölbchen fein

[1]) Stroscher, Konservierung und Keimzahlen des Hackfleisches. Anh. f. Hyg., Bd. 40, S. 291.

zerrieben. Um für die Vergleichung der Keimzahlen mittlere Werte zu erhalten, sind jedesmal mehrere Kölbchen beschickt und weiter verarbeitet worden. Diese Kölbchen wurden im Schüttelapparat so lange geschüttelt, bis die Fleischmasse gleichmäßig verteilt und keine gröberen Teilchen mehr zu erkennen waren, worauf von diesen Bouillonaufschwemmungen mit steriler Pipette 5, 1, 0,5 und 0,1 oder 0,05 ccm in Petrischalen verbracht und mit 10 ccm verflüssigten, auf 45° abgekühlten Agars übergossen wurde. Berechnet man diese Volumina gleichmäßig verteilter Bouillonaufschwemmung auf die ursprünglich in 20 ccm Bouillon zerriebene Fleischmasse von 2 Milligramm, so ergibt sich, daß

	5 ccm	Aufschwemmung	0,0005 g	Fleisch
	1 „	„	0,0001 g	„
	0,5 „	„	0,00005 g	„
	0,1 „	„	0,00001 g	„
und	0,05 „	„	0,000005 g	„ entsprechen.

Nachdem die Petrischalen dann 24 und 48 Stunden im Brutschrank teils unter gewöhnlichen Verhältnissen, teils in der Wasserstoffatmosphäre gehalten worden waren, wurde die Keimzählung mittels der Zählplatte nach Lafar vorgenommen. Aus dem Vergleich der einzelnen Keimzahlen, die in mehreren Parallelreihen von Platten gleicher Verdünnung erhalten und durch mehrfache Kontrollen geprüft wurden, ließ sich dann der Keimgehalt berechnen. Zu erwähnen ist noch, daß nach den einleitenden Versuchen die erste Verdünnung (5 ccm Aufschwemmung = 0,0005 g Fleisch) aus dem Grunde nicht mehr angelegt wurde, weil diese Platten einesteils schwer erstarrten und andernteils infolge des Überwucherns ihrer Oberfläche zum Zählen nicht verwendet werden konnten. Beiläufig sei bemerkt, daß sich für das Schütteln des in Bouillon zerriebenen Fleisches nebenstehender, von einem von uns (Poppe) konstruierter Apparat, der sich besonders für kleinere Flüssigkeitsmengen eignet, gut bewährt hat (Fig. 2). Dieser stellt einen um die Achse a drehbaren Winkelhebel b dar, auf dem ein auswechselbares Gestell c zur Aufnahme von 4 Kölbchen montiert ist. Durch die verstellbare Platte d werden die senkrecht stehenden Kölbchen in ihrer Lage festgehalten. Diese

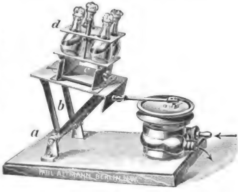


Fig. 2.

Vorrichtung ermöglicht es auch, daß Kölbchen verschiedener Größe eingespannt werden. Der Antrieb geschieht durch eine kleine Wasserturbine mit Exzenterübertragung oder mittels Elektromotors, der mit der Exzenterscheibe durch Transmission verbunden ist. Der Vorteil dieses Apparates ist, daß die Schüttelbewegung in tangentialer

Digitized by Google

Richtung mit jeweiliger Unterbrechung am toten Punkt stattfindet. Hierdurch ändert sich die Stromrichtung in den Kolben fortwährend, sodaß eine möglichst gleichmäßige Aufschwemmung erzielt wird. Anstatt des Gestelles c kann ein Rahmen zur Aufnahme von horizontal gelagerten Reagenzgläsern eingeschaltet werden. Diese Vorrichtung, die das ausgiebigste Schütteln zuläßt, dürfte sich vor allem zur Herstellung gleichmäßiger Aufschwemmungen von vorher abgetöteten Bakterien eignen.

Über die physikalische Beschaffenheit des der natürlichen Fäulnis in Luft überlassenen Fleisches ist folgendes zu bemerken. Das vom Fleischer bezogene Rindfleisch, das einen von sechs Schnittflächen begrenzten, 2 kg schweren Würfel darstellte, war von dunkelroter Farbe und fester, trockener Konsistenz; es reagierte an der Oberfläche schwach alkalisch und in der Tiefe schwach sauer. Nachdem es 2 Tage bei Luftzutritt freihängend aufbewahrt worden war, zeigte es dunkel- bis schwarzrote Farbe, trockene Oberfläche bei unverändertem Geruch und unveränderter Reaktion. Auch nach 4 Tagen konnte der gleiche Befund in bezug auf Farbe und Reaktion aufgenommen werden. Nach 10 Tagen — 13 Tage nach der Schlachtung — wies das Fleisch dunkelschwarzrote Farbe, stinkenden Geruch, aus dem sich ein schwacher Geruch nach Ammoniak hervorhob, Durchsetzung mit zahllosen Fliegenlarven und Puppen sowie Schimmelbildung auf der Oberfläche auf. Auf der Schnittfläche zeigte sich das Fleisch in der Tiefe auffallend hellrot gefärbt; die Reaktion der Oberfläche und der Tiefe war amphoter.

Die in den verschiedenen Stadien der Fleischfäulnis durch die angebene Methode ermittelten Keimzahlen sowie die Reaktion des Fleisches sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

	Reaktion		Durchschnittliche Keimzahlen im Gramm Fleisch, ermittelt in den verschiedenen Verdünnungen				Gesamtdurchschnittszahl der Keime im Gramm Fleisch
	Oberfläche	Tiefe	0.1 mg	0,05 mg	0,01 mg	0,005 mg	
vor der Aufbewahr.	alkal.	sauer					
Oberfläche			66 000 000	—	—	—	66 000 000
Tiefe a, aerob . .			800 000	520 000	—	—	660 000
b, anaerob. .			750 000	540 000	—	—	645 000
nach 2 Tagen . .	alkal.	sauer					
Tiefe a, aerob . .			410 000	520 000	400 000	—	443 000
b, anaerob. .			50 000	40 000	—	—	45 000
nach 4 Tagen . .	alkal.	sauer					
Tiefe a, aerob . .			3 340 000	2 880 000	9 660 000	—	5 293 000
b, anaerob. .			1 810 000	1 660 000	2 700 000	—	2 057 000
nach 10 Tagen . .	amphoter	amphoter					
Oberfläche			∞	∞	∞	180 000 000	180 000 000
Tiefe a, aerob . .			∞	∞	80 000 000	120 000 000	100 000 000
b, anaerob. .			∞	∞	32 000 000	31 000 000	31 500 000

Überblickt man diese Zahlen, so fällt vor allem auf, daß das Fleisch zu Beginn des Versuches — 3 Tage nach der Schlachtung — trotzdem es keine sichtbaren

Veränderungen zeigte, auf seiner Oberfläche bereits einen so hohen Keimgehalt hatte, wie ihn die Tiefe erst nach ungefähr 10tägiger Fäulnis des Fleisches aufzuweisen hatte. Vergleicht man weiterhin die in der Tiefe des Fleisches in den verschiedenen Stadien der Fäulnis gefundenen Keimzahlen, so ist bemerkenswert, daß die Zahl der aeroben Keime die der anaerob (in Wasserstoffatmosphäre) wachsenden stets bedeutend überragte. Auffallend war auch, daß nach 2 Tagen ein Sinken des Keimgehaltes — durch Wiederholungsversuche bestätigt — ermittelt werden konnte. Mit dem Eintritt der amphoteren Reaktion war dann ein gewaltiges Ansteigen des Keimgehaltes sowohl der Oberfläche, als auch besonders der Tiefe zu erkennen. Der Umschlag der Reaktion auf der Oberfläche und in der Tiefe nach 10 Tagen in eine amphotere ist dadurch zu erklären, daß auf der Oberfläche des Fleisches Kokkenarten, die bei Züchtung in Nährböden mit Lackmus als Indikator meistens schwache Säuerung hervorrufen, die Alkalibildner teilweise verdrängen, während die säurebildenden Bakterien der Tiefe (Koli- und Proteusarten) von dem stark alkalibildenden Bact. putidum alcalifaciens (s. u.) beeinflußt werden.

Die in den verschiedenen Zeitpunkten der Fleischfäulnis, z. T. auch unter anaeroben Bedingungen isolierten Bakterienarten, die auf Grund ihrer morphologischen und kulturellen Merkmale gesichtet und nach den Angaben von Flügge, Lehmann und Neumann, Matzuschita (s. o.) bestimmt wurden, sind in folgender Zusammenstellung aufgeführt.

I. Vor der Aufbewahrung (3 Tage nach der Schlachtung):
  Oberfläche: Micrococcus albus, Bact. proteus Zenkeri,
  Tiefe: Micrococcus albus, M. candicans, Bact. fluorescens liquefaciens.

II. Nach 2 Tagen (5 Tage nach der Schlachtung):
  Tiefe: M. aureus, M. flavus liquefaciens (Sarcina flava), Bact. fluorescens liquefaciens, Bact. putidum non liquefaciens, Bact. coli anindolicum (Matzuschita).

III. Nach 4 Tagen (7 Tage nach der Schlachtung):
  Tiefe: M. albus, Bact. putidum non liquefaciens, Bact. proteus vulgare, Bact. coli proximus (Matzuschita).

IV. Nach 10 Tagen (13 Tage nach der Schlachtung):
  Oberfläche: M. albus, dem M. ureae ähnliche Kokken,
  Tiefe: Mikrokokken, dem M. ureae gleichend, Bact. prot. vulgare (darunter eine dem Bact. cadaveris albus Straßmann und Strecker ähnelnde Varietät), Bact. putidum non liquefaciens alcalifaciens.

Auffallend war es, daß es weder bei Züchtung im Botkinschen Wasserstoffapparat, noch in Verteilungskultur in hochgeschichtetem Traubenzuckeragar gelungen war, obligat anaerobe Keime zu isolieren, denn das unter Anaerobiose in je zwei Fällen gezüchtete Bact. fluorescens liquefaciens und Bact. putidum non liquefaciens sowie das in einem Falle isolierte Bact. coli proximus und der M. albus waren auf Grund weiterer Züchtungsversuche als fakultative Anaerobier anzusprechen.

Um über die Anwesenheit von Anaerobiern im faulenden Fleisch, die von verschiedenen Forschern gefunden worden waren, Aufschluß zu erhalten, wurde ein Ver-

fahren angewandt, das dem von Bienstock (a. a. O.) bei seinen Untersuchungen über die Ätiologie der Eiweißfäulnis gewählten ähnlich ist. Da es diesem Forscher nämlich nicht gelungen war, aus dem primären Infektionsstoff selbst (Straßenkot, Muskeljauche) bei anaeroben Kulturversuchen seinen Bac. putrificus coli zu isolieren, so ließ er mit diesen Substanzen geimpftes Fibrin in Flüssigkeit faulen und impfte nach Zerfall desselben auf ein neues Gläschen ab; sobald hier Zerfall eintrat, und sich ein köpfchensporenbildender Bazillus zeigte, impfte er wieder ab und so weiter, bis sich nach 8—10 Umimpfungen sein Bac. putrificus coli in Reinkultur ergab. Durch Erhitzung der Faulflüssigkeit auf 80° tötete er dann die noch anwesenden aeroben Formen ab, und züchtete aus den die Erhitzung überdauernden Sporen seinen anaeroben Bac. putrificus coli. Von dem 2 und 4 Tage unter Luftzutritt faulenden Fleisch wurden 1 ccm große Muskelstückchen in Bouillonröhrchen verbracht und der weiteren Fäulnis teils aerob, teils anaerob (im Buchnerschen Röhrchen) im Brutschrank überlassen. Durch häufigere Untersuchung konnten gramnegative Kurzstäbchen und zahlreiche in Staphylo-, Diplo- und Streptoform liegende grampositive Kokken nachgewiesen werden. Nachdem diese Faulflüssigkeiten 4 Wochen bei 37° gehalten worden waren, hatten sich die Muskelstückchen in einen formlosen Detritus verwandelt, der als Sediment den Boden der Röhrchen bedeckte und beim Umschütteln sich flockig in der Flüssigkeit verteilte (Geruch nach Skatol). Auch zu dieser Zeit, zu der das Fleisch vollkommen zerfallen war, waren in zahlreichen Ausstrichpräparaten keine köpfchensporenbildenden, dem Bac. putrificus morphologisch gleichenden Bazillen nachweisbar. Durch Platten- und Zuckeragarkulturen wurden aerob der M. ureae (s. o.), der M. ureae liquefaciens und das Bact. proteus vulgare, sowie anaerob der M. ureae liquefaciens, das Bact. putidum non liquefaciens und Bact. proteus vulgare isoliert. Da es trotzdem möglich sein konnte, daß die Entwicklung obligat anaerober Keime durch fakultative Anaerobier gehemmt worden war, so wurde außerdem das von Kitasato ursprünglich zum Nachweis von sporenbildenden Anaerobiern — nach den Angaben in der Literatur soll es sich ja bei der Fäulnis in erster Linie um sporentragende obligat anaerobe Formen handeln — eingeführte Verfahren angewandt, indem die Faulflüssigkeiten zwecks Abtötung der vegetativen Formen $^1/_2$—1 Stunde lang im Wasserbad bei 80° erhitzt wurden. Es gelang aber auch bei Anwendung dieser Methode nicht, obligate Anaerobier aus den Faulflüssigkeiten zu erhalten; denn der so isolierte Bac. subtilis und M. ureae sowie ein dem Diplococcus griseus non liquefaciens n. sp. (Tissier u. Martelly) gleichender Kokkus, der den für diesen charakteristischen Polymorphismus erkennen ließ, sind nur als fakultative Anaerobier zu bezeichnen.

Eine weitere Versuchsreihe wurde dadurch erhalten, daß dem 10 Tage bei Luftzutritt faulenden Fleisch Proben von der angegebenen Größe entnommen, in Bouillon- oder Peptonwasserröhrchen verbracht und teils aerob, teils im Pyrogallolrohr bei 37° gehalten wurden. Auch in diesen Faulflüssigkeiten waren in den verschiedenen Zeitpunkten der weiter fortschreitenden Fäulnis Anaerobier durch kulturelle Untersuchung nicht nachzuweisen. Selbst nach 85tägiger Fäulnis (10 Tage Fäulnis des ganzen Stückes, 75 Tage Fäulnis kleinerer Teile desselben im Bouillon-Kulturröhrchen), zu welcher Zeit die Faulflüssigkeiten vollkommene Auflösung der Fleischstückchen im Detritus, starke

Indolbildung und Geruch nach Skatol zeigten, waren nur fakultative Anaerobier zu isolieren. Eine weitere, 90 Tage unter rein anaeroben Bedingungen im Brutschrank gehaltene Serie, die teilweise Aufhellung der Faulflüssigkeit mit Ausscheidung eines starken Bodensatzes, Geruch nach faulen Eiern und starke Indolbildung erkennen ließ, ergab den gleichen Befund. Von diesen Faulflüssigkeiten wurde auch in Anlehnung an die Bienstocksche Methode in zwei parallelen Kulturreihen auf Bouillon und Peptonwasserröhrchen weiter verimpft und so bis zur 10. Generation fortgefahren mit dem Ergebnis, daß in keinem der geimpften Röhrchen obligate Anaerobier, wohl aber fakultative — M. ureae, M. ureae liquefaciens, Bact. proteus vulgare, Bact. putidum alcalifaciens, Bac. coprogenes (Schottelius u. Lydtin) — nachzuweisen waren.

Zur Reinzüchtung der Anaerobier wurde in vorstehenden Versuchen meist die von Liborius eingeführte Methode angewandt: Verteilungskultur in hoher Schicht von Traubenzuckeragar, der in Eiswasser schnell zum Erstarren gebracht und dann mit flüssigem Agar überschichtet wird. Die hierbei erhaltenen Tiefenkolonien wurden teils durch Zerschneiden des Glases, teils mittels Kapillare nach Veillon[1]) isoliert und anaerob weiter gezüchtet. Wie schon erwähnt, kam auch die Plattenkultur im Botkinschen Wasserstoffapparat, sowie die Züchtung in Buchnerschen Pyrogallolröhrchen zur Anwendung.

Überblickt man die bei diesen Untersuchungen über die natürliche Fleischfäulnis gefundenen Bakterienarten, so ist es das wichtigste Ergebnis, daß lediglich aerobe oder fakultativ anaerobe Formen isoliert werden konnten. Außer mehreren Kokkenarten (Micrococcus albus, aureus, candicans, flavus liquefaciens, ureae und ureae liquefaciens) wurden vor allem Bakterien der Proteusgruppe (Bact. proteus vulgare, Bact. proteus Zenkeri, Bac. cadaveris albus) und proteusähnliche (Bact. fluorescens liquefaciens, Bact. putidum non liquefaciens, Bact. putidum non liquefaciens alcalifaciens) gefunden, während die koliartigen (Bact. coli anindolicum, Bact. coli proximus, Bact. lactis aerogenes) und die Heubazillengruppe (Bac. subtilis, Bac. coprogenes) mehr in den Hintergrund traten. Zu erwähnen ist auch, daß die Einordnung der Bakterien der Proteusgruppe (vergl. S. 133) in eine bestimmte Spezies manchmal Schwierigkeiten bereitete, weil die eine oder andere als typisch bezeichnete Kulturreaktion fehlte. In solchen Fällen wurde jedoch, falls die Mehrzahl der Kultureigenschaften für Proteus sprach, die betreffende Art dieser Gruppe zugerechnet.

Da eine nähere Besprechung der gefundenen bekannten Arten ohne weiteres Interesse ist, so soll nur noch auf folgende Einzelheiten eingegangen werden. Das am Ende der Fleischfäulnis auftretende Bact. putidum non liquefaciens bot dadurch ein besonderes Interesse, daß es sich von dem eigentlichen Bact. putidum (Flügge) durch die starke Bildung von Alkali unterschied, wodurch nach 24 Stunden ein Umschlag der Farbe der neutralen Lackmusmolke in ultramarin- bis dunkelblau eintrat. Im übrigen stimmten beide Bakterien in ihren sämtlichen Kultureigenschaften überein: Fehlen der Gelatineverflüssigung, keine Milchgerinnung und Indolbildung, keine Vergärung von Trauben- und Milchzucker. Die starke Alkalibildung des genannten

[1]) Veillon, Sur un microcoque strictement anaerobie, trouvé dans des suppurations fétides. Soc. de biologie. 1893 (juillet).

Bakteriums, das als Bact. putidum alcalifaciens (non liquefaciens) zu benennen sein dürfte, scheint auf die nahe Verwandtschaft zu dem Bact. faecalis alcaligenes (Petruschky) hinzudeuten. Mit diesem hat es außer den genannten Reaktionen noch gemeinsam, daß es Neutralrot unverändert läßt, auf Lackmusmilchzuckeragar stark blaue Kolonien und auf Kartoffeln einen dicken braunen Rasen bildet, sowie von Typhusserum nicht agglutiniert wird. Durch diesen Befund erfährt die Annahme, daß das Bact. putidum und das Bact. faecalis alcaligenes als identisch zu betrachten seien, eine Stütze unter der Voraussetzung, daß man unter dem Bact. putidum die alkalibildende Art versteht.

Der aus der 4 Wochen alten Faulflüssigkeit gezüchtete, die Erhitzung auf 80° überstehende Kokkus (s. S. 142) glich dem von Tissier und Martelly (a. a. O.) beschriebenen Diplococcus griseus non liquefaciens n. sp. vollkommen und stimmte mit diesem in allen Kulturmerkmalen überein: keine Verflüssigung der Gelatine, grauweiße schleierartig dünne Kolonien auf Schrägagar, Fehlen der Milchgerinnung und Hämolysinbildung, kein Wachstum auf Kartoffel. Weiterhin bildete er außer Diploformen kurze Ketten und zeigte vor allem den nach genannten Autoren für diesen Kokkus typischen Polymorphismus, der sich darin äußerte, daß die mittleren Kettenglieder abgeplattet und die Endglieder wie Kurzstäbchen (Kokkobazillen) erschienen.

Zum Schlusse noch eine Bemerkung. Die vorstehend näher beschriebenen Bakterien wurden als regelmäßige und daher typische Bewohner des untersuchten faulenden Fleisches festgestellt. Hieraus ist nicht zu folgern, daß sich nicht auch andere Bakterienarten bei der Fäulnis des Fleisches beteiligen können.

Zusammenfassung.

1. Die Aufbewahrung von Fleisch in der Stickstoffatmosphäre übt keinen Einfluß auf seine Haltbarkeit aus.

2. Die Fäulnis von Fleisch in der Stickstoffatmosphäre unterscheidet sich von der gewöhnlichen Fleischfäulnis durch das völlige Fehlen von freiem Ammoniak.

3. Bei den von uns ausgeführten Untersuchungen über die Fäulnis des Fleisches wurden weder der Bac. putrificus, der von Bienstock als spezifischer Erreger der Fibrin- und Milchfäulnis ermittelt worden ist, noch andere obligate Anaerobier gefunden.

Die vorstehenden Untersuchungen wurden auf Anregung der Herren Geh. Regierungsrat Dr. Kerp und Geh. Regierungsrat Professor Dr. Ostertag in der Zeit vom Juni 1908 bis Januar 1909 in den Laboratorien der chemisch-hygienischen und der Veterinär-Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt.

Beiträge zur Frage des Wachstums und der quantitativen Bestimmung von Bakterien an der Oberfläche von Nährböden.

Von

Professor **Dr. Spitta**, Regierungsrat,

und

Dr. A. Müller, ständigem Mitarbeiter

im Kaiserl. Gesundheitsamte.

(Hierzu Tafel III.)

Seitdem Koch durch seine grundlegende Arbeit[1]) den Weg gewiesen hatte, auf welchem man überhaupt erst zu einer systematischen Untersuchung der Ätiologie der Infektionskrankheiten gelangen konnte, indem er das Verfahren zur Gewinnung von Reinkulturen von Mikroorganismen auf festen durchsichtigen Nährböden lehrte, ist dieses Verfahren Gemeingut der wissenschaftlichen Welt geworden und mit unwesentlichen Modifikationen stets und ständig überall dort angewandt worden, wo man entweder besondere Bakterienspezies zur qualitativen Untersuchung isolieren oder in einer bestimmten Menge des Untersuchungsmateriales ohne Rücksicht auf die Art der Bakterien die Quantität der Keime feststellen wollte.

So unbestritten diese klassische Methode in ihrem Wert auch heute noch dasteht, so konnte es doch nicht ausbleiben, daß man sich auch mit den Schattenseiten der Methode befaßte und ihre Zuverlässigkeit namentlich in quantitativer Hinsicht prüfte.

Da die quantitative Form der Methode hauptsächlich für Zwecke der Wasseruntersuchung in Frage kommt, so hat man gerade auf diesem Sondergebiet verhältnismäßig die meisten Nachprüfungen ausgeführt.

Diese sind in der weitaus überwiegenden Mehrzahl der Fälle darauf hinausgegangen, den Einfluß festzustellen, welchen die stoffliche Zusammensetzung des Nährbodens auf das Auswachsen der in denselben eingesäten Keime ausübt.

Man fand z. B., daß sich eine Reihe von Bakterien in der Gelatineplatte überhaupt nicht entwickelt, daß je nach dem Ausgangsmaterial (frisches Fleischwasser, Extrakt) nach den Zusätzen[2]) (Pepton, Albumose, Salze), nach dem Alkaleszenzgrad[3]), nach dem Wassergehalt und nach der Festigkeit des Nährbodens (Gehalt an

---

[1]) Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. 1. Bd. 1881, S. 1.

[2]) Hesse u. Niedner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29, S. 454 und Bd. 42, S. 179. Gage u. Phelps, Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 32, S. 920. Prall, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 18, S. 436. Thomann, Zentralbl. f. Bakt. II., Bd. 6, S. 796.

[3]) G. Hesse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 46, S. 9.

gelatinierender Masse, Schmelzpunkt derselben)[1]) sich Unterschiede ergeben, sowohl hinsichtlich der definitiv erhaltenen Keimzahl, wie auch in der Schnelligkeit des Wachstums, ganz abgesehen von dem Einfluß, welchen die Temperatur ausübt, bei welcher die Platten aufbewahrt werden, und der Art der Zählung (Lupe, Mikroskop). Auch die Dichte der Besäung spielt augenscheinlich eine Rolle[2]). Man erhält also auf den Platten immer nur einen wechselnden Bruchteil der wirklich vorhandenen Keime. Denn daß diese tatsächlich in weit größerer Anzahl vorhanden sind, als es nach den Ergebnissen der üblichen Plattenmethode erscheint, darüber belehrt uns die direkte mikroskopische Zählung[3]).

Gewohnheitsgemäß und nach Übereinkunft[4]) werden die zur Bestimmmung des Keimgehalts im Wasser angelegten Gelatineplatten meist nach 48 Stunden langer Aufbewahrung bei 20—22° gezählt. Daß um diese Zeit noch ein großer Teil der Keime, welche auf der Gelatineplatte überhaupt entwicklungsfähig sind, sich der Wahrnehmung entzieht, zumal wenn die Zählung mittels einer Lupe vorgenommen wird, ist sicher und der Mehrzahl der Untersucher wohl auch bewußt.

Italienische Forscher[5]) rechnen mit einer Vermehrung der Keime bezw. der Kolonien auf der Platte bis zum 13., ja 15. Tage.

Nach Walbaum[6]) findet indessen eine Zunahme der Keime nach dem achten Wachstumstage nur noch selten statt.

Hesse und Niedner zählen die auf ihrem Albumoseagar gewachsenen Kolonien sogar erst nach 2—3 Wochen langer Aufbewahrung der Platten. Die vor dem zehnten Tage erhaltenen Kolonienzahlen sind ihrer Ansicht nach stets zu niedrig.

Daß mit Wasser beimpfte, in der üblichen Weise hergestellte Gelatineplatten bereits nach 24 Stunden zur Zählung geeignet sind, wird sehr selten vorkommen, und doch würde es gerade bei den hygienischen Wasseruntersuchungen oft von großem Werte sein, die Resultate möglichst bald nach Entnahme der Wasserprobe zu erhalten, damit gegebenen Falls entsprechende Maßnahmen rechtzeitig getroffen werden können.

Die soeben kurz erwähnten Mängel des Gelatineplattenverfahrens dürften allgemein bekannt sein, dagegen wird einem Faktor — soweit wir wenigstens aus der Literatur ersehen konnten — auffällig geringe Bedeutung beigemessen, das ist der Einfluß, den die Lage der eingesäten Keime in der Gelatine- oder Agarplatte auf die Entwicklung der Keime zur Kolonie ausübt.

Die Bakterien vermögen sich nur dann zu typischen Kolonieformen zu entwickeln, wenn sie in ihrem Wachstum nicht mechanisch gehemmt werden und wenn sie die

---

[1]) Dejonc, Dissert. Straßburg 1904.

[2]) Ruata, Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. 11, S. 220 u. 287. Clauditz, Hyg. Rundschau 904. S. 665.

[3]) Winterberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29, S. 75. Klein, Zentralbl. f. Bakt. I. O, Bd. 27, S. 834. Hehewert, Arch. f. Hyg. Bd. 39, S. 321, Winslow and Willcomb, Journal of inf. dis. Suppl. I.

[4]) Veröffentl. des Kaiserl. Gesundheitsamtes 1899, S. 109.

[5]) Abba, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38, S. 372. Rossi, Ref. Zentralblatt f. Bakt. I. Bd. 30. S. 439.

[6]) Zentralbl. f. Bakt. I., Bd. 30, S. 790.

richtigen Lebensbedingungen finden. Zu letzteren gehört aber außer einem zusagenden Nährboden bei den aëroben Keimen auch der ungehinderte Luftzutritt. Es sind daher auf den in üblicher Weise hergestellten Gelatineplatten von dieser Bakteriengruppe meist nur die an der Oberfläche liegenden Kolonien kräftig und charakteristisch ausgebildet. Nur von einzelnen Autoren ist der Vorteil, den die oberflächlichen Kolonien für die Untersuchng bieten, bereits gewürdigt und eine entsprechende Methodik vorgeschlagen worden.

Droßbach[1]) verdünnte seine zu untersuchende Wasserprobe mit sterilem Wasser und goß die Mischungen auf die Nährböden gleichmäßig auf. Nach genügender Verteilung stellt er die Schälchen horizontal unter die Glocke einer kräftig wirkenden Luftpumpe und verdampft dadurch die aufgegossene Wasserschicht.

Die Vorteile seiner Methode sieht er in dem charakteristischen Wachstum der Kolonien, welches durch den Widerstand des Substrates nicht gehindert ist, und in der bequemen Abimpfbarkeit derselben. Ferner lassen sich die Kolonien leichter zählen.

Burri[2]) bespricht ebenfalls die Bedeutung und Anlage von Oberflächenkulturen. Er legt dieselben dadurch an, daß er mittels eines Zerstäubers die betreffende Flüssigkeit auf die sterile Gelatineplatte appliziert, indem letztere dem feinen Staubregen 1—3 Sekunden lang ausgesetzt wird. Burri hat indessen seine inzwischen zur Tuschepunktkultur[3]) weiter ausgearbeitete Methode nur für qualitative bakteriologische Untersuchungen benutzt.

Kruse[4]) hebt die Vorteile der Oberflächenkulturen (Größe der Kolonien, schnelles Wachstum, charakteristisches Aussehen) ebenfalls hervor und empfiehlt, das Wasser mittels sterilisierter Tuschpinsel auf die erstarrten Gelatine- und Agarplatten aufzutragen. „Im allgemeinen möchte ich behaupten", schreibt er, „daß das bisherige Plattenverfahren durch meine Modifikation stets und mit großem Vorteil ersetzt werden kann". v. Freudenreich[5]) bestätigt die Vorteile der Kruseschen Methode, zieht es aber meist vor, das zu untersuchende Wasser mit steriler Flüssigkeit zu verdünnen, die Mischungen auf die erstarrten Agar- und Gelatineplatten zu gießen und die überschüssige Flüssigkeit von der Platte abfließen zu lassen.

H. J. van't Hoff[6]) empfiehlt, augenscheinlich ohne Kenntnis der oben genannten Arbeiten, das zu untersuchende Wasserquantum auf die erstarrte Gelatineplatte aufzutropfen und durch Drehen und Schiefhalten der Platte so weit als möglich zu verteilen.

---

[1]) Aus der bakteriologischen Praxis. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 12, S. 653.

[2]) Über einige zum Zwecke der Artcharakterisierung anzuwendende bakteriologische Untersuchungsmethoden usw. Dissertation. Zürich 1893. Ref. im Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 15, S. 89. Arch. f. Hygiene Bd. 19, S. 1.

[3]) Das Tuschverfahren als einfaches Mittel zur Lösung einiger schwieriger Aufgaben der Bakterioskopie. G. Fischer. Jena 1909.

[4]) Eine allgemein anwendbare Verbesserung des Plattenverfahrens. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 15, S. 419.

[5]) Über eine Verbesserung des Plattenverfahrens. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 15, S. 643.

[6]) Eine schnellere und quantitativ bessere Methode der bakteriologischen Plattenzählung. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 21, S. 731.

Während nach ihm die vollkommene Entwicklung von Keimen zu Kolonien auf der gewöhnlichen Gelatineplatte 4—6 Tage dauert, erhält er mit seiner neuen Methode schon nach zwei Tagen „viel bessere quantitative Resultate wie sonst nach 5—6 Tagen." Er erhielt durchschnittlich 5—10% mehr Kolonien als mit der älteren Methode.

Er hält seine Methode für einen Gewinn für die Kontrolle von Filterwerken und sagt: „Daß hier nur die aeroben Arten wachsen, tut bei der Filtrationskontrolle garnichts zur Sache; die streng anaeroben Arten wachsen bei der anderen Methode auch wenig oder gar nicht, weil immer Luft in der Gelatine ist."

Abgesehen davon, daß in neuerer Zeit im besonderen bei der bakteriologischen Stuhluntersuchung, der Untersuchung auf Diphtherie und der Untersuchung von Wasserproben auf das Vorhandensein von Bact. coli, Bact. typhi und Vibrio cholerae asiaticae die Isolierung der Kolonien durch die Ausstrichmethode mit der Platinöse[1]), dem Platinpinsel[2]) und dem „Drigalskispatel" allgemein anerkannt und geübt worden ist, sind uns neuere Methoden der Oberflächenkultur nicht bekannt geworden. Es schien uns daher von Interesse, mit einer quantitativ arbeitenden Methode vergleichende Untersuchungen über die Ergebnisse des ursprünglichen Kochschen Plattenverfahrens und der Oberflächenkultur anzustellen. Dabei haben wir eine Reihe von auffallenden Erscheinungen beobachtet, deren Ursache wir zwar zunächst nicht in allen Punkten aufzuklären vermochten, welche aber doch vielleicht durch Nachprüfungen an einem reichhaltigeren Material von Wasserproben, als es uns zur Verfügung steht, ihrer Erklärung näher geführt werden können. Versucht wurde zunächst die Verteilung des zu untersuchenden Wassers mittels Spray auf erstarrte Gelatineplatten, und zwar wurde darauf gesehen, einen möglichst feinen Spray zu erzielen, um auch stärker keimhaltiges Wasser untersuchen zu können.

In der Tat gibt es Apparate, welche Flüssigkeiten durch Zerstäuben zu einem ungemein feinen Nebel auflösen, z. B. den Aerographen der Aerograph Co. Ltd. (London, Paris, Berlin). Versuche ergaben jedoch, daß sich mit ihm quantitativ nicht arbeiten läßt. Der Zerstäubungskegel ist nicht gleichmäßig genug, um eine Petrischale in allen Teilen gleich stark zu besprühen, vielmehr entfällt die Hauptmenge der versprühten Flüssigkeit auf das Zentrum der Platte, während die peripheren Teile minder dicht mit Tröpfchen besät werden. Der feine Sprühnebel prallt ferner z. T. von der Platte zurück, und der geringste Luftzug verweht ihn. Auch läßt sich der Apparat nur mit sehr kleinen Wassermengen beschicken, es bilden sich auch mitunter größere Tropfen, und vor allem setzt sich die ungemein feine Ausströmungsöffnung durch etwaige im Wasser, z. B. Flußwasser, enthaltene Schwebestoffe leicht zu. Der für den Apparat erforderliche Luftdruck beträgt 1—2 Atmosphären und wird durch eine Luftpumpe für Fußbetrieb erzeugt. Auch bei den mit Hilfe des „Paroleine"-Zerstäubers von Burroughs Wellcome & Co. London bestäubten Platten ist das Zentrum der Platten bedeutend dichter besät als die dem Rande zu gelegenen Teile.

Wir übergehen eine Reihe von erfolglosen Versuchen, welche wir anstellten, um

[1]) Bekanntlich bestand schon das ursprüngliche Reinkulturverfahren Kochs in der Anlage von Strichkulturen mit dem Platindraht auf Gelatine.

[2]) Vergl. Paffenholz. Hyg. Rundschau 1895, S. 733.

eine gleichmäßige feine Versprühung des Wassers auf eine größere Fläche zu erzielen, und schildern gleich die einfache Methode, welche uns schließlich zum Ziele führte.

In einen Porzellantrichter mit eingelassener poröser Filterplatte, wie er zur Erzielung keimfreier Filtrate benutzt wird[1]), werden 100 ccm des zu untersuchenden Wassers gegeben. Der Hals des Trichters wird mittels dickwandigen Gummischlauches mit dem Schlauchansatz des Reduzierventils eines Stahlzylinders mit komprimiertem Gas verbunden (Fig. 1) und nun ein Druck von etwa $1^1/_2$ Atmosphären gegeben, welchen man nach einigen Minuten auf 1,25—1 Atmosphäre ermäßigt. Das Gas drängt sich in feinsten Bläschen durch die poröse Filterplatte nach oben und reißt eine gleichmäßige Wolke von Wassertröpfchen mit sich, die sich auf einer darüber gehaltenen Glasplatte als feiner Tau niederschlagen[2]). Bei dem Druck einer Atmosphäre werden die Tröpfchen 10—12 cm hoch geschleudert. Als Gas verwandten wir zuerst reinen Stickstoff, da Kohlensäure auf einige Bakterien schädigend einwirkt, und wir bei Verwendung von Sauerstoff oder Luft eine Vermehrung der aeroben Keime während des Versuches besorgten.

Wie wir uns indessen später überzeugten (vergl. Tabelle I, Versuch Nr. 6 u. 7)[3]) kann man den komprimierten Stickstoff augenscheinlich unbedenklich durch die erheblich billigere komprimierte Luft ersetzen. Einzelne Versuche mit Wasserstoff, Sauerstoff und Kohlensäure wurden ebenfalls angestellt (vergl. unten).

Die von uns verwandten Porzellantrichter hatten einen lichten Durchmesser von durchschnittlich 10 cm und eine innere Tiefe von etwa 5 cm. Wir legten nun auf den oberen Rand des Trichters einen metallenen Blendenring von 8,9 cm lichtem Durchmesser und stellten auf diesen mit der offenen Seite nach unten die untere Hälfte einer Petrischale von 9 cm lichtem Durchmesser, welche mit 10 ccm steriler und wieder erstarrter Nährgelatine beschickt war (s. Fig. 2).

Gibt man nun Druckluft von unten in den Trichter, so wird, ebenso wie die Glasplatte, die Oberfläche der Gelatineschicht mit feinsten Wassertröpfchen gleichmäßig besät. War das Wasser bakterienhaltig, so findet man nach verhältnismäßig kurzer Aufbewahrung der besprühten Platten die Oberfläche der Gelatine mit Bakterienkolonien in regelmäßiger Verteilung bedeckt. Zweckmäßig ist es, die Schale während der Besprühung langsam horizontal zu drehen.

Die Trichter werden vor jedesmaligem Gebrauch in strömendem Dampf sterilisiert. Um jedoch auch ein Arbeiten mit infektiösen Keimen zu ermöglichen, ließen wir später eine sterilisierbare Vorrichtung (Fig. 1) anfertigen, welche durch Herausziehen bezw. Einschieben einer Glasscheibe (Fig. 1 g) gestattet, die vorher aufgelegte Kulturplatte eine bestimmte Zeit dem Spray auszusetzen, ohne daß man Gefahr läuft, beim Auflegen und Abnehmen der Platte mit dem infektiösen Material in Berührung zu kommen.

---

[1]) Preisverzeichnis Teil II der Firma Paul Altmann (Berlin) Nr. 565.

[2]) Das von uns geübte Verfahren dürfte sich übrigens besonders gut zur schnellen Sättigung bezw. Übersättigung einer beliebigen Flüssigkeit mit irgend einem unter Druck stehenden Gase bei Vermeidung großer Verluste des letzteren eignen. Es könnte daher bei verschiedenen analytisch-chemischen oder chemisch-technischen Verfahren, sowie auch zu Heilzwecken z. B. zur Herstellung von Kohlensäurebädern mit Vorteil Verwendung finden.

[3]) Die Versuche 6 und 7 wurden mit dem gleichen Spreewasser angestellt. Im Versuch 6 kam komprimierter Stickstoff, im Versuch 7 komprimierte Luft zur Anwendung.

Hält man Druck, Entfernung der Gelatinefläche vom Flüssigkeitsspiegel und Höhe der Flüssigkeitsschicht[1]) annähernd konstant, so wird in der gleichen Zeit auch annähernd die gleiche Menge Wasser versprüht, wenigstens wenn die Verstäubung erst einmal eine Zeitlang[2]) im Gange ist. Für genaue Bestimmungen ist es indessen ratsam, jedesmal vor Beginn und nach Abschluß einer Untersuchungsreihe durch

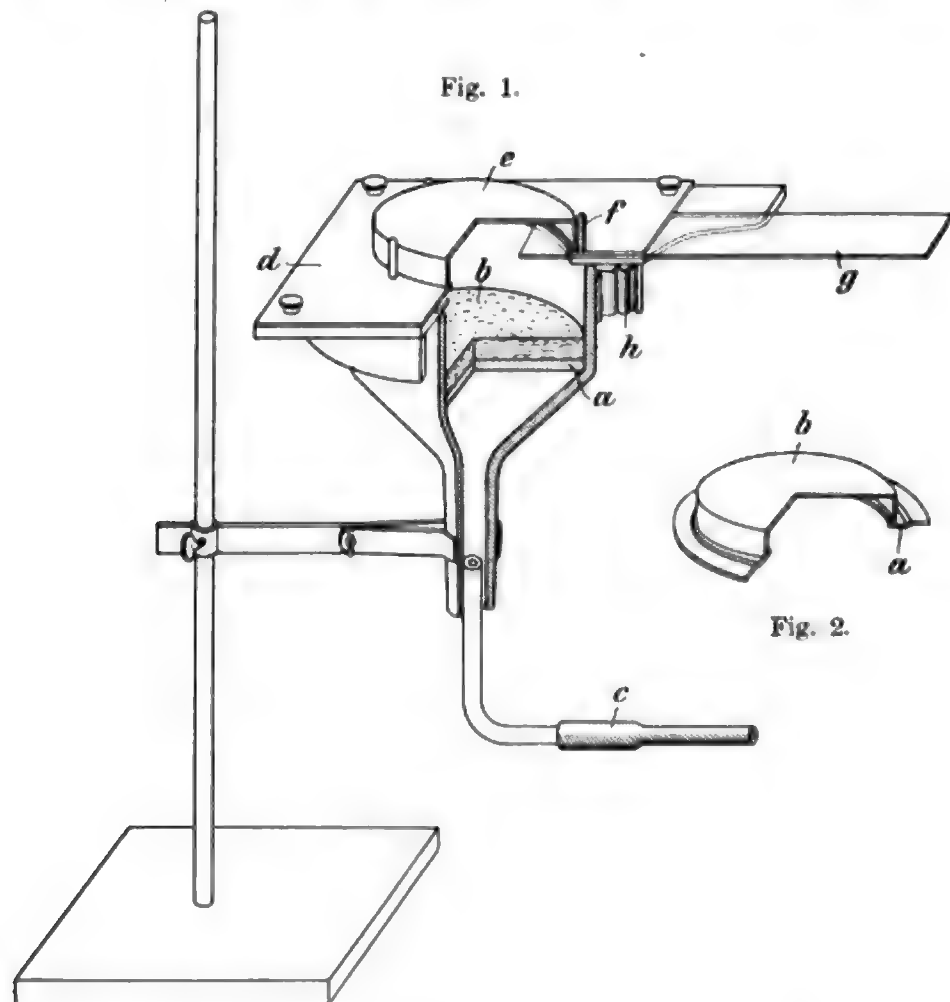


Fig. 1. Vorrichtung zum Versprühen infektiösen Materials.

a) Poröse Platte,
b) Bakterienaufschwemmung,
c) Zuleitung des komprimierten Gases,
d) Aufsatz,
e) Petrischale,
f) Führungsstifte,
g) Verschlußscheibe,
h) Klemmfedern.

Fig. 2. Einfacher Trichteraufsatz.

a) Blendring,
b) Petrischale.

Wägung die im Mittel in einer Minute versprühte Flüssigkeitsmenge festzustellen; denn die Durchlässigkeit verschiedener Tonplatten ist nicht immer die gleiche, und außerdem kommt es bei einzelnen Wässern bisweilen beim Versprühen zur Bildung größerer Blasen, welche den gleichmäßigen Ablauf des Vorganges stören.

Gewöhnlich erhielten wir bei Anwendung von 1 Atmosphäre Druck in 1 Minute

[1]) Dieselbe beträgt bei einem lichten Trichterdurchmesser von 10 cm und 100 ccm Füllung 1,3 cm.

[2]) Es genügen 10—15 Minuten.

20—50 mg Wasser auf die Platten versprüht, selten mehr. Durch Abänderung der Besprühungszeit kann man also die verschiedensten Wassermengen verimpfen und umgeht damit die umständlichen Verdünnungen. Indessen nimmt eine Gelatineplatte gewöhnlich nicht mehr als 200 mg Wasser auf, ohne daß es zur Tropfenbildung kommt. Bei sehr reinem Wasser muß man also das anzuwendende größere Wasserquantum auf mehrere Gelatineplatten durch Besprühung verteilen.

Nachstehend geben wir einige Zahlen als Beispiele. Es wurden erhalten in einer Minute auf der Glasschale:

Zeit nach Beginn des Versuchs Min.	1 Atmosphäre Druck mg	1,8 Atmosphäre Druck mg
10	40	191
20	39	201
30	38	190
40	35	200
50	24	221
60	29	191
70	31	185

Nach Ingangsetzung des Versuchs werden die Zahlen meist nach etwa 10 Minuten ziemlich konstant und halten sich so etwa $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden lang. Dann nimmt — ohne daß die Ursache dafür recht klar ist — die Durchlässigkeit der Tonplatte für Gas ab, und die Zahlen sinken.

Nach dem Sterilisieren in Dampf stellt sich die alte Durchlässigkeit wieder her[1]). Dafür, daß die Versprühung, innerhalb eines beschränkten Zeitraumes wenigstens, der aber zum Besprühen einer großen Anzahl Platten genügt, ziemlich gleichmäßig verläuft, sind auch die unten (S. 152) angeführten Zahlen ein Beweis. Jedenfalls sind die Fehler, welche beim Abmessen kleiner Wassermengen bei der üblichen Methode gemacht werden, nicht kleiner als die beim Sprühverfahren vorkommenden. Bei späteren Versuchen stellte sich heraus, daß man am schnellsten zu einer gleichmäßigen Verstäubung gelangt, wenn man den zunächst auf $1^1/_2$ Atmosphären eingestellten Druck nach etwa 2 Minuten bis unter 1 Atmosphäre fallen läßt, um ihn dann sofort auf 1—1,25 Atmosphären wieder einzustellen.

Die jeweilige Menge des Wassers, welche durch Versprühung auf die Gelatine- oder Agarplatte gelangt, kann nicht wohl durch Wägung der gegossenen und erstarrten Platten vor und nach dem Besprühen festgestellt werden, da solche Platten während der mit dem Wägen verbundenen Manipulationen durch Verdunsten schon Wasser abgeben und dadurch die Gewichtszunahme durch die Besprühung teilweise durch Gewichtsverlust ausgleichen. Am besten bestimmt man — nachdem der Apparat etwa 10 Minuten lang in Tätigkeit war — durch zwei Wägungen die jeweils in 1 Minute von einer leeren Petrischale aufgenommene Sprühwassermenge[2]). Hierzu

[1]) Die Durchlässigkeit der Tonplatten kann übrigens bekanntlich dadurch bedeutend gesteigert werden, daß man sie vorher in Alkohol badet.

[2]) Die Tröpfchen zerfließen auf dem Glase nicht und sind wegen ihrer Oberflächenspannung vor dem Verdunsten geschützt.

eignen sich besonders wegen der Möglichkeit eines dichten Abschlusses während des Wägens die mit eingezogenem Rand und Gummiring versehenen Schalen (Modell des Kgl. Preußischen Kriegsministeriums). Darnach stellt man den eigentlichen Versuch mit den Gelatine- oder Agarplatten an und läßt nach Besprühung derselben abermals ein bis zwei Kontrollwägungen auf leeren Petrischalen folgen. Wie die folgenden Zahlen zeigen, unterscheiden sich die vor und nach dem Versuch gewonnenen Zahlen nur unwesentlich voneinander. Nimmt man das Mittel aus beiden, so erhält man mit genügender Genauigkeit die auf die Gelatine- oder Agarplatte versprühte Wassermenge. Es wurden bei verschiedenen Versuchen und bei Benutzung verschiedener Trichter gefunden in 1 Minute mg Wasser:

Vor dem Versuch	Nach dem Versuch	Berechnetes Mittel	Vor dem Versuch	Nach dem Versuch	Berechnetes Mittel
40	38	39	37	37	37
51	51	51	26	26	26
60	57	58,5	30	30	30
86	88	87	31	35	33
43	44	43,5	46	42	44
96	90	93	86	84	85
29	25	27	45	45	45
48	46	47	31	30	30,5
40	38	39	39	39	39
55	53	54	39	41	40
52	52	52	29	29	29
34	33	33,5	31	30	30,5
43	43	43	29	29	29
50	47	48,5			

Die Entnahme der Kontrollproben für die Gußplatten[1]) wurde unmittelbar im Anschluß an den Sprühversuch aus dem Trichter selbst vorgenommen.

Als Nährböden kamen in Betracht: 1. Fleischextraktgelatine[2]). 2. 1,8%iger Nähragar, entsprechend hergestellt. 3. Nährstoff Heyden-Agar nach **Hesse** und **Niedner**[3]). Die Platten wurden entweder im Brutschrank bei 22° bezw. 37° aufbewahrt oder aber bei Zimmertemperatur (17°) gehalten. Gezählt wurde, je nach Größe der Kolonien und Dichte der Besäung mit Lupe[4]) (2½ fache lin. Vergröß.) oder mit dem Mikroskop[5]) (Leitz Obj. 3, Okular 1). Alle Zahlenangaben sind zu beziehen auf 1 g bezw. 1 ccm Wasser. Die höheren Zahlen sind auf hunderte und tausende abgerundet.

I. Versuche mit Spreewasser.

Nach 20—24 Stunden waren die Sprühplatten durchweg mit unbewaffnetem Auge oder mit der Lupe zählbar, während die Gußplatten häufig makroskopisch noch gar kein Wachstum zeigten und höchstens mikroskopisch gezählt werden konnten (s. Tafel III, Fig. 1, 2 und 3). Sehr bedeutend war der Unterschied in den gefundenen

[1]) Unter „Gußplatten" verstehen wir im folgenden stets die nach der üblichen Methode hergestellten Gelatine- und Agarplatten.

[2]) Herstellung nach Veröffentlichung des Kaiserl. Gesundheitsamtes 1899, S. 107.

[3]) A. a. O.

[4]) Abkürzung: L.

[5]) Abkürzung: M.

Kolonienzahlen. Folgende neun Versuche wurden unter aeroben Bedingungen angestellt (Tab. I). Aus ihnen ergibt sich, daß bei mikroskopischer Zählung sowohl nach 20—24 Stunden wie nach 48 Stunden auf den Sprühplatten durchschnittlich 7mal soviel Kolonien gefunden wurden wie auf den Gußplatten[1]). Bei Lupenzählung wurden nach 24 und 48 Stunden durchschnittlich 3—3 1/2 mal soviel Kolonien auf der Sprühplatte festgestellt wie auf der Gußplatte.

Eine Ausnahme machte nur ein einzelner unter anaeroben Bedingungen angestellter Versuch (Nr. 10). Hier war ein wesentlicher Unterschied zwischen Guß- und Sprühplatte nicht festzustellen.

Tabelle I. Spreewasser.

Versuch-Nr.	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Art der Zählung	Zählung nach ? Stunden	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten	Bemerkungen
					Gußplatten	Sprühplatten		
1	Gelatine	22	M	24	—	32 000	—	
			L	24	13 000	—	—	
			„	48	19 000	1 210 000	1 : 63,7	
2	Gelatine	22	L	24	50 000	191 000	1 : 3,8	
			„	72	117 000	—	—	
			M	24	106 000	504 000	1 : 4,7	
			„	48	126 000	zerflossen	—	
			„	—	123 000	—	—	
3	Agar	22	L	48	8 000	34 000	1 : 4,3	
			„	72	11 000	39 000	1 : 3,5	
			M	48	15 000	83 000	1 : 5,5	
			„	72	16 000	85 000	1 : 5,3	
4	Gelatine	22	M	24	29 000	219 000	1 : 7,6	
			„	48	40 000	222 000	1 : 5,2	
			„	72	44 000	—	—	
5	Gelatine	22	M	24	43 000	290 000	1 : 6,7	
			„	48	51 000	272 000	1 : 5,3	
			„	72	49 000	—	—	
6	Gelatine	22	M	24	—	777 000	—	
			„	48	81 000	744 000	1 : 9,2	
			„	72	86 000	—	—	
7	Gelatine	22	M	48	79 000	725 000	1 : 9,2	
8	Gelatine	22	L	24	3 000	7 000	1 : 2,3	
			„	48	7 000	20 000	1 : 2,9	
			„	72	9 000	20 000	1 : 2,2	
			M	48	13 000	—	—	
			„	72	11 000	—	—	
9	Gelatine	22	M	24	400	3 700	1 : 9,3	Durch Sandfilter filtriert
			„	48	1 400	13 500	1 : 9,6	
10	Gelatine	22	L	72	1 000	1 000	1 : 1	Anaerobe Züchtung
			M	72	2 000	—	—	

[1]) Die eine auffallende Verhältniszahl 1 : 63,7 ist bei der Durchschnittsberechnung nicht mit berücksichtigt worden.

II. Versuche mit Brunnenwasser.

Das Wasser wurde einem längere Zeit außer Betrieb gewesenen Abessinierbrunnen im Hofe des Kaiserl. Gesundheitsamtes entnommen. Vor Entnahme der Proben wurde der Brunnen 10—30 Minuten abgepumpt.

Es wurden vier Versuche angestellt und zwar wurden von dem Brunnenwasser zweimal Gelatineplatten, einmal Agarplatten und einmal Platten mit Hesse- und Niednerschem Nährboden angelegt.

Die Ergebnisse finden sich in Tabelle II (Versuche Nr. 11—14).

Tabelle II. Brunnenwasser.

Versuch Nr.	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Art der Zählung	Zählung nach ? Stunden	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
11	Gelatine	22	M	24	8200	136 000	1 : 16,6
			„	48	verflüssigt	verflüssigt	—
12	Gelatine	22	L	24	1600	28 300	1 : 17,7
			„	48	2500	31 000	1 : 12,4
			„	72	5900	35 700	1 : 6,0
			M	24	3300	56 300	1 : 16,8
			„	48	4700	50 700	1 : 10,8
13	Agar	22	L	24	—	10 900	—
			„	48	1300	20 000	1 : 15,4
			„	72	1800	23 100	1 : 12,8
			M	48	2400	20 000	1 : 8,3
			„	72	2500	23 100	1 : 9,2
14	Nährboden nach Hesse und Niedner	22	L	24	—	6 300	—
			„	48	4500	10 700	1 : 2,4
			„	72	5400	15 900	1 : 2,9
			„	96	6300	24 000	1 : 3,8
			M	48	6400	—	—
			„	72	6700	—	—
			„	96	7300	—	—

Hinsichtlich der Schnelligkeit des Wachstums der Kolonien auf den Sprühplatten im Vergleich zum Wachstum der Kolonien auf den Gußplatten ist bei diesen Versuchen das nämliche zu sagen wie bei den mit Spreewasser angelegten Plattenkulturen. Die Unterschiede waren vielleicht nicht so stark ausgeprägt, aber doch sehr deutlich.

Was das Zahlenverhältnis der Kolonien angeht, so ist aus der Tabelle folgendes zu entnehmen. Es wurde bei den Sprühplatten gefunden: auf Gelatine nach 24 und 48 Stunden, mikroskopisch gezählt, durchschnittlich das 11fache wie auf den Gußplatten, mit der Lupe gezählt, das 15fache, auf Agar-Agar nach 48 Stunden mikroskopisch das 8fache, mit der Lupe gezählt, das 15fache, auf dem Hesse- und Niednerschen Nährboden nach 48 Stunden mit der Lupe nur das 2fache.

III. Versuche mit Leitungswasser.

Vor der Probeentnahme ließen wir das Wasser ½—2 Stunden lang dem geöffneten Hahne entströmen.

Es wurden vier Versuche angestellt (vgl. Tab. III, Versuch Nr. 15—18), sämtlich auf Gelatineplatten. Die Zählung wurde nur mit der Lupe vorgenommen.

Tabelle III. Leitungswasser.

Versuch Nr.	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Art der Zählung	Zählung nach ? Stunden	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
					Gußplatten	Sprühplatten	
15	Gelatine	22	L	48 72	6 185	154 900	1 : 25,7 1 : 4,8
16	Gelatine	22	L	24 48 72 96	1 5 35 50	63 83 95 95	1 : 63 1 : 16,6 1 : 2,7 1 : 1,9
17	Gelatine	22	L	48 72 120	73 144 170	450 900 900	1 : 6,2 1 : 6,2 1 : 5,3
18	Gelatine	22	L	48 72	30 36	262 317	1 : 8,7 1 : 8,8

Es wurde also gefunden: auf den Sprühplatten im Vergleich zu den Gußplatten nach 20—24 Stunden das 63fache, nach 40—48 Stunden das 6—26fache, nach 72 Stunden das 3—9fache und nach 4 bezw. 5 Tagen das 2- und 5fache. Das Auswachsen der Kolonien fand auf den Sprühplatten etwas schneller statt als auf den Gußplatten, doch waren die Unterschiede nicht so deutlich wie bei den Spreewasserplatten.

IV. Versuche mit Aufschwemmungen von Reinkulturen.

Zu den Versuchen wurden Agarschrägkulturen benutzt, meist von 20—48stündigem Alter. Die Aufschwemmung geschah in 0,8%iger steriler Kochsalzlösung. Zu den Versuchen wurden aus den bekanntesten Bakteriengruppen einige Vertreter ausgewählt.

a) Proteus mirabilis[1]).

Die in Tabelle IV zusammengestellten Versuche (Nr. 19—22) überraschen durch die großen Unterschiede in den Keimzahlen, welche mittels Sprüh- und Gußplatten erhalten wurden. Auf den Sprühplatten kamen nämlich 7—40mal so viel Keime zur Entwicklung als auf den Gußplatten. Die Kolonien waren auf den Sprühplatten bedeutend weiter entwickelt und ließen schon bei schwacher Vergrößerung eine lebhafte Bewegung der Stäbchen erkennen. Eine Zählung nach 48 Stunden war bei einiger-

[1]) Die Ordnung der einzelnen Formen ist im großen und ganzen nach ihrem Sauerstoffbedürfnis erfolgt, soweit letzteres näher bekannt ist.

maßen stark besäten Sprühplatten nicht durchführbar, da die Kolonien dann schon häufig miteinander verschmolzen waren.

Tabelle IV. Proteus mirabilis.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
						Gußplatten	Sprühplatten	
19	Agarkultur 24 Std. 22°	Gelatine	22	24	M	56 000	1 157 000	1 : 21
		Agar	22	24	„	58 000	1 692 000	1 : 29
20	Agarkultur 48 Std. 22°	Agar	22	24	M	23 000	1 032 000	1 : 40
21	Agarkultur 24 Std. 17°	Agar	22	24	M	340 000	2 194 000	1 : 6,5
22	Agarkultur 48 Std. 17°	Agar	22	24	M	83 000	2 775 000	1 : 33

b) Bacterium coli.

Es wurden 24 Versuche mit drei Stämmen angestellt (vergl. Tabelle V, Versuch Nr. 23—46). Der Unterschied in der anfänglichen Wachstumsgeschwindigkeit zwischen den Kolonien der Guß- und Sprühplatten war bei allen drei Stämmen nicht erheblich. Sehr verschieden waren dagegen die Keimzahlenverhältnisse, die in den einzelnen Versuchen erhalten wurden. Für Stamm I ergaben die Zählungen der Guß- und Sprühplatten die gleichen oder doch nur in geringem Grade voneinander abweichende Keimzahlen. Auch bei Stamm Σ wurden in einer Anzahl Versuche mittels Guß- und Sprühplatten die gleichen Ergebnisse erhalten, in anderen aber entwickelten sich in den Gußplatten bis fünfmal soviel Keime als auf den Sprühplatten. Der frisch aus Menschenkot isolierte Stamm *α* endlich ergab zunächst auf den Sprühplatten zwei bis dreimal so hohe Keimzahlen als in den Gußplatten; in kurzer Zeit jedoch änderte sich das Verhältnis zu ungunsten der Sprühplatten (vergl. Versuch Nr. 43 u. 46).

In den meisten Fällen wurden die Sprühplatten mit der Lupe gezählt. Trotzdem schien ein Vergleich mit den mikroskopisch gezählten Gußplatten durchaus zulässig, da einmal bei Kontrollzählungen mit dem Mikroskop dieselben Resultate erzielt wurden, und in den meisten Fällen die Kolonien der Sprühplatten völlig isoliert und gut makroskopisch sichtbar waren, so daß bei der verhältnismäßig dünnen Besäung der Sprühplatten die Lupenzählung, beziehungsweise die Auszählung der ganzen Platte, sicherere Zahlenwerte als die mikroskopische Zählung ergeben mußte. Daß die mit Hilfe der Sprühplatten erhaltenen geringeren Keimzahlen nicht etwa durch Anwendung der Lupenzählung bedingt worden sind, dafür sprechen auch die später noch zu erwähnenden, stets mit den Ergebnissen der Gußplatten übereinstimmenden Zahlen, welche die Lupenzählung bei oberflächlich nach den Angaben Droßbachs geimpften Platten ergab.

Tabelle V. Bacterium coli.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
	Stamm I							
23	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	22	24	M	177 700	166 800	1 : 0,94
24	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	22	24	L	87 500	87 800	1 : 1,0
25	Agarkultur 48 Std. 37°	Gelatine	22	48	L	80	80	1 : 1,0
26	Agarkultur 48 Std. 37°	Gelatine „	22 22	24 48	M „	85 600 92 800	109 100 98 100	1 : 1,3 1 : 1,1
	Stamm II.							
27	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	22	24	M	54 800	48 300	1 : 0,9
28	Agarkultur 20 Std. 22°	Agar	37	24	M + L	2 200	1 400	1 : 0,6
29	Agarkultur 48 Std. 17°	Gelatine	22	24	M + L	4 900	1 700	1 : 0,3
30	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine „	17 17	48 48	M M + L	287 300 3 100	228 500 3 100	1 : 0,8 1 : 1,0
31	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	22	48	M + L	2 700	1 100	1 : 0,4
32	Agarkultur 20 Std. 37°	Agar „ Gelatine	37 22 22	48 48 48	M + L „ „	4 300 4 400 4 400	4 000 4 500 4 600	1 : 0,9 1 : 1,0 1 : 1,0
33	Agarkultur 20 Std. 37°	Agar „ Gelatine	37 22 22	48 48 48	M + L „ „	3 700 3 700 3 700	1 300 1 400 1 400	1 : 0,4 1 : 0,4 1 : 0,4
34	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine Agar	17 37	72 24	M + L „	2 000 2 500	1 000 600	1 : 0,5 1 : 0,2
35	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	3 000	1 200	1 : 0,4
36	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	3 200	1 500	1 : 0,5
37	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine „	17 17	72 72	M + L „	4 400 4 800	2 200 2 200	1 : 0,5 1 : 0,5

Digitized by Google

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
						Gußplatten	Sprühplatten	
38	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	4 300	1 600	1 : 0,4
		"	17	48	"	4 100	1 800	1 : 0,4
39	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	4 900	900	1 : 0,2
40	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	4 000	1 400	1 : 0,4
		"	17	72	"	4 100	800	1 : 0,2
		"	17	72	"	3 600	800	1 : 0,2
41	Agarkultur 44 Tage 17°	Gelatine	17	24	M	68 900	79 500	1 : 1,2
		"	17	48	"	69 200	79 500	1 : 1,1
42	Agarkultur 20 Std. 37° abgeimpft von der 44 Tage alten Kultur	Gelatine	17	48	M + L	6 800	1 500	1 : 0,2

Stamm α.

43	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	2 800	7 600	1 : 2,7
44	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	3 600	5 000	1 : 1,4
		"	17	48	"	3 200	4 900	1 : 1,5
45	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	3 100	6 600	1 : 2,1
46	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	1 600	1 300	1 : 0,8
		"	17	48	"	1 600	1 300	1 : 0,8
		"	17	48	"	1 400	800	1 : 0,6

c) Bacterium typhi.

Zu den Versuchen wurden vier Stämme verwendet (vergl. Tabelle VI, Versuche Nr. 47—73). Übereinstimmend wurde in fast allen Versuchen mit Hilfe der Sprühplatten nur der zehnte Teil bis die Hälfte der in den Gußplatten gezählten Keime erhalten. Nur in wenigen Fällen, die später noch näher besprochen werden sollen, wurden annähernd gleiche Ergebnisse erzielt. In der Entwicklungsgeschwindigkeit waren die Sprühplatten bedeutend den Gußplatten überlegen. Auf den bei 22° gehaltenen Gelatine-Sprühplatten zeigten sich bei 100facher Vergrößerung nach 20 Stunden charakteristische, durchscheinende, haarlockenähnliche Kolonien. Hinsichtlich der Zählmethode gilt das für Bact. coli Gesagte.

Tabelle VI. Bacterium typhi.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
	Stamm G.							
47	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Agar	37	24	M + L	297 000	47 900	1 : 0,16
		Gelatine	22	48	M	303 300	54 900	1 : 0,15
48	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	22	48	M	556 500	64 700	1 : 0,12
49	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	22	48	M + L	257 900	39 800	1 : 0,15
50	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	22	24	M + L	384 300	53 200	1 : 0,14
						42 600	6 700	1 : 0,16
51	Agarkultur 48 Stunden 17 °	Gelatine	22	48	M + L	196 000	15 000	1 : 0,08
		Agar	37	24	„	165 600	12 600	1 : 0,08
	Stamm Coblenz.							
52	Agarkultur 48 Stunden 17 °	Agar	37	24	M + L	2 400	900	1 : 0,38
53	Agarkultur 48 Stunden 17 °	Agar	37	24	M + L	131 100	18 900	1 : 0,14
		„	37	24	„	610	120	1 : 0,20
		„	22	72	„	600	150	1 : 0,25
		Gelatine	22	72	„	97 300	15 000	1 : 0,15
54	Agarkultur 20 Stunden 22 °	Agar	37	24	M + L	196 200	58 900	1 : 0,30
55	Bouillonkultur 6 Stunden 37 °	Nutrose-bouillon-agar	37	24	M + L	23 700	4 200	1 : 0,18
56	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	22	48	M	395 000	—	1 : 0,10
		Agar	37	24	L	—	40 200	
57	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	22	24	M	241 900	—	1 : 0,14
		Agar	37	24	L	—	34 400	
58	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Agar	37	24	M + L	308 900	68 400	1 : 0,22
		„	37	24	„	2 600	800	1 : 0,31
		„	22	72	„	2 600	900	1 : 0,35
		Gelatine	22	72	„	382 300	73 400	1 : 0,19
		„	22	72	„	2 200	800	1 : 0,36
	Stamm 234.							
59	Agarkultur 48 Stunden 17 °	Agar	37	24	M + L	2 700	650	1 : 0,24
60	Agarkultur 20 Stunden 22 °	Agar	37	24	M + L	188 300	60 400	1 : 0,32
61	Bouillonkultur 6 Stunden 37 °	Nutrose-bouillon-agar	37	24	M + L	36 000	8 200	1 : 0,23

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- und Sprühplatten
						Gußplatten	Sprühplatten	
				Stamm 194.				
62	Agarkultur 20 Stunden 22 °	Agar	37	24	M + L	253 300	56 200	1 : 0,22
63	Bouillonkultur 6 Stunden 37 °	Nutrosebouillonagar	37	24	M + L	29 500	6 950	1 : 0,24
64	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine Agar	17 37	96 48	M + L "	16 500 16 000	2 300 2 200	1 : 0,14 1 : 0,14
65	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Agar " Gelatine	37 22 17	24 72 72	M + L " "	2 000 2 000 1 800	250 250 300	1 : 0,13 1 : 0,13 1 : 0,17
66	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	17	72	M + L	6 700	6 800	1 : 1,0
67	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	17	72	M + L	5 300 5 300	1 900 2 600	1 : 0,36 1 : 0,49
68	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	17	72	M + L	10 300 10 300	5 700 5 300	1 : 0,55 1 : 0,51
69	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	17	48	M + L	7 300	2 300	1 : 0,32
70	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	17	96	M + L	7 300 6 800 6 500	6 900 6 500 5 400	1 : 0,97 1 : 0,95 1 : 0,83
71	Agarkultur 20 Stunden 37 °	Gelatine	17	72	M + L	6 100	3 300	1 : 0,54
72	Agarkultur 15 Tage 17 °	Gelatine	17	96	M + L	6 500	5 700	1 : 0,88
73	Agarkultur 20 Stunden 37 ° abgeimpft von der 15 Tage alten Kultur	Gelatine	17	96	M + L	7 600 5 600	1 300 1 400	1 : 0,17 1 : 0,25

d) Bacterium paratyphi B.

Es wurden zwei Versuche angestellt (vergl. Tab. VII S. 161, Versuche Nr. 74—75), die einen Unterschied zwischen Guß- und Sprühplatten betreffs Keimzahl nicht ergaben. In der Entwicklung waren die Sprüh- den Gußplatten merklich voraus.

e) Bacillus megatherium.

Die Versuche (vergl. Tab. VIII S. 161, Nr. 76—79) zeigen ein starkes Schwanken in dem Verhältnis der Keimzahlen von Guß- und Sprühplatten. Im allgemeinen lieferten letztere erheblich weniger Kolonien als die erstgenannten. In der Entwicklung waren jedoch die Kolonien der Sprühplatten bedeutend voraus.

Tabelle VII. Bacterium paratyphi B.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
74	Agarkultur 24 Std. 22°	Agar	37	24	M	292 000	281 000	1 : 0,96
75	Agarkultur 24 Std. 22°	Agar	37	24	M	682 000	692 000	1 : 1,0

Tabelle VIII. Bacillus megatherium.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
76	Agarkultur 48 Std. 22°	Gelatine „	22 22	24 24	M M	2 405 000 59 000	1 256 000 51 000	1 : 0,5 1 : 0,9
77	Agarkultur 24 Std. 22°	Gelatine	22	24	M	64 000	57 000	1 : 0,9
78	Agarkultur 64 Tage 17°	Gelatine	17	48	M	55 700	64 500	1 : 1,2
	Agarkultur 48 Std. 22°, abgeimpft von der 64 Tage alten Kultur	Gelatine	17	48	M + L	43 500	2 700	1 : 0,06
79	Agarkultur 48 Std. 22°	Gelatine „	22 22	24 72	M + L M + L	12 200 12 200	1 800 2 400	1 : 0,15 1 : 0,2

f) Bacillus subtilis.

Sprüh- und Gußplatten ergaben hier (vergl. Tab. IX, Nr. 80 u. 81) die gleichen Keimzahlen. Das Wachstum wurde auch hier durch die Sprühplatten begünstigt.

Tabelle IX. Bacillus subtilis.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
80	Agarkultur 24 Std. 22°	Gelatine	22	24	M	40 000	41 000	1 : 1,0
81	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	22	24	M + L	3 200	3 200	1 : 1,0

g) Bacillus fluorescens liquefaciens.

Es wurden zwei Versuche auf Gelatine- und Agarplatten angestellt (vergl. Tab. X, Nr. 82 u. 83). Auf den Sprühplatten wurde die 2—9fache Menge von Kolonien

gezählt wie auf den Gußplatten. Die Wachstumsgeschwindigkeit war auf den Sprühplatten erheblich größer als auf den Gußplatten.

Tabelle X. Bacillus fluorescens liquefaciens.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
82	Agarkultur 24 Std. 22°	Gelatine	22	24	M	665 000	6 232 000	1 : 9,4
		„	22	48	„	625 000	5 783 000	1 : 9,3
		Agar	22	24	„	552 000	3 979 000	1 : 7,2
		„	22	48	„	596 000	4 167 000[1])	1 : 7,0
83	Agarkultur 24 Std. 22°	Gelatine	17	24	M	3 600	8 500	1 : 2,4
		„	17	48	„	3 900	8 500	1 : 2,2

h) Vibrio Berolinensis.

In allen Versuchen (vergl. Tab. XI, Nr. 84—92) waren auf den Sprühplatten mehr Kolonien entwickelt als in den Gußplatten. Die Zahl schwankte um das Eineinhalb- bis Sechseinhalbfache. Auch in der Koloniegröße übertrafen die besprühten Platten ein wenig die Gußplatten.

Tabelle XI. Vibrio Berolinensis.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
84	Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M	469 000	1 386 000	1 : 2,9
85	Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M	75 000	498 000	1 : 6,6
86	Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M + L	2 600	6 400	1 : 2,5
87	Agarkultur 48 Std. 17°	Agar	37	24	M + L	4 800	29 000	1 : 6,0
88	Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M + L	3 600	14 700	1 : 4,1
		Gelatine	17	72	„	3 800	16 000	1 : 4,2
89	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	5 000	21 400	1 : 4,3
		„	17	72	„	34	133	1 : 3,9
90	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	4 300	8 600	1 : 2,0
		„	17	72	„	4 100	9 900	1 : 2,4
91	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	3 700	5 300	1 : 1,4
92	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	4 300	8 100	1 : 1,9
		„	17	72	„	4 600	10 700	1 : 2,3

[1]) Durch Zählung nur einer Platte erhalten, die nach 24 Stunden 4050000 Keime ergeben hatte.

i) Staphylococcus pyogenes aureus.

Bei den hier ausgeführten Versuchen (vergl. Tab. XII, Nr. 93—97) wurden die größten Zahlenunterschiede zwischen Sprüh- und Gußplatten erhalten und zwar wurden auf jenen 21- bis 52mal soviel Kolonien als in diesen gezählt. Die Wachstumsgeschwindigkeiten auf beiden Platten wichen nicht erheblich voneinander ab.

Tabelle XII. Staphylococcus pyogenes aureus.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
						Gußplatten	Sprühplatten	
93	Agarkultur 24 Std. 37°	Gelatine	22	24	M	66 000	2 365 000	1 : 36
94	Agarkultur 24 Std. 37°	Gelatine „	22 22	24 48	M „	67 000 80 000	3 220 000 3 220 000	1 : 48 1 : 40
95	Agarkultur 64 Tage 17°	Gelatine „	22 22	72 96	M „	7 700 7 700	277 400 277 400	1 : 36 1 : 36
96	Agarkultur 20 Std. 37°, abgeimpft von der 64 Tage alten Kultur	Gelatine „	22 22	72 96	M „	1 700 1 700	87 800 87 800	1 : 52 1 : 52
97	Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M	3 100	66 100	1 : 21

k) Micrococcus citreus agilis.

Auch hier waren auf den Sprühplatten stets erheblich mehr, 16- bis 37mal soviel, Kolonien entwickelt als auf den Gußplatten (vergl. Tab. XIII, Nr. 98—101). Wachstumsunterschiede traten nicht deutlich hervor. Bei 17—22° ist die Entwicklung nur eine sehr langsame.

Tabelle XIII. Micrococcus citreus agilis.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
						Gußplatten	Sprühplatten	
98	Agarkultur 24 Std. 22°	Gelatine	22	48	M	118 000	4 405 000	1 : 37
99	Agarkultur 20 Std. 17°	Gelatine	17	96	M	1 500	23 000	1 : 16
100	Agarkultur 64 Tage 17°	Gelatine „	22 22	48 72	M „	10 100 10 100	159 400 —	1 : 16 —
101	Agarkultur 48 Std. 22°, abgeimpft von der 64 Tage alten Kultur	Gelatine „	22 22	48 72	M „	11 300 11 300	403 200 —	1 : 36 —

l) Bacillus prodigiosus.

Wenn wir zunächst von der Farbstoffbildung ganz absehen, so geht aus den in der Tabelle XIV zusammengestellten Versuchen (Nr. 102—108) hervor, daß man durch Anlage von Sprühplatten $1^1/_2$ bis 17 mal so viel Keime als in den Gußplatten zur Entwicklung bringen kann. Die Entwicklungsgeschwindigkeit in den Guß- und auf den Sprühplatten ist nicht wesentlich verschieden.

Tabelle XIV. Bacillus prodigiosus.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
						Gußplatten	Sprühplatten	
102	Kartoffelkultur 24 Std. 17°	Agar	22	24	M	625 000	909 000	1 : 1,5
103	Kartoffelkultur 24 Std. 17°	Agar	22	24	M	151 000	1 093 000	1 : 7,2
104	Kartoffelkultur 24 Std. 17°	Agar	22	48	M + L	2 300	10 700	1 : 4,7
		„	22	72	„	2 500	10 700	1 : 4,3
105	Kartoffelkultur 5 Tage 17°	Agar	22	24	M	28 900	509 200	1 : 17
		„	22	48	„	30 300	509 300	1 : 17
106	Kartoffelkultur 4 Tage 17°	Agar	22	48	L	390	1 260	1 : 3,2
		„	22	72	„	410	1 260	1 : 3,0
		Gelatine	22	24	„	340	1 300	1 : 3,8
107	Agarkultur	Gelatine	22	24	M + L	57 500	856 600	1 : 15
108	Agarkultur 4 Tage 17°	Agar	22	24	M + L	8 000	23 200	1 : 2,9
		„	22	48	„	6 900	23 200	1 : 3,3
		Gelatine	22	48	„	7 600	23 700	1 : 3,1

Über die Farbstoffbildung sollten Versuche aufklären, die 1. mit Reinkulturen (Tabelle XV, Versuche 109—111), 2. mit Spreewasser unter Zusatz einer Aufschwemmung von Bac. prodigiosus (Tabelle XV, Versuch 112 u. 113), 3. mit einem Spreewasser angestellt wurden, dem vor dem Filtrieren durch ein Sandfilter von 30 cm Filterschicht Bac. prodigiosus-Keime zugesetzt worden waren (Versuch Nr. 114—116). Die nach verschieden langen Zwischenräumen aufgefangenen Filtrate wurden auf Bac. prodigiosus untersucht. Bereits nach 24 Stunden schimmerten in den Agarkulturen alle oberflächlichen Bac. prodigiosus-Kolonien schwach rötlich, um nach 40 Stunden leuchtend rot zu erscheinen. Die Überlegenheit der Sprühplatten, die in sämtlichen Versuchen deutlich hervortrat, ist dadurch bedingt, daß einmal auf den Sprühplatten bedeutend mehr Keime zur Entwicklung gelangen als in den Gußplatten (vergl. Tabelle XIV), und daß zweitens in den letzteren gewöhnlich nur die Oberflächenkolonien Farbstoff bilden.

Während bei den Reinkulturversuchen die Kolonien auf den Sprühplatten nach 40—48 Stunden ohne Ausnahme rot waren, zeigten in den Gußplatten selbst nach drei Tagen nur rund 30—60% die Rotfärbung. Hier ist noch zu bemerken, daß in den dicht besäten Gußplatten sich auch die Tiefenkolonien nach 2—3 Tagen teilweise rot färben.

Auch in den Spreewasserversuchen trat nach 40 Stunden keine Zunahme der roten Kolonien auf den Sprühplatten mehr ein. Um diese Zeit übertraf ihre Zahl diejenige der Gußplatten im Durchschnitt um das 16fache. Dieser Unterschied wurde zwar später etwas geringer, immerhin aber stand, wenn man die Zählungen nach 90–120 Stunden berücksichtigt, die Anzahl der gefärbten Kolonien in den Gußplatten zu derjenigen auf den Sprühplatten im Verhältnis von 1 : 7.

Tabelle XV. Bacillus prodigiosus.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Art der Platte	Für die Platte benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl in 1 ccm	Anzahl der roten Kolonien in 1 ccm nach				
								20—24	42—48	66—72	90—96	114—120
								Stunden				
109	Kartoffelkultur 4 Tage 17°	Gußplatte	Agar	22	48	L	390	—	90	225	—	—
		Sprühplatte	„	22	48	„	1 260	—	1 260	1 260	—	—
110	Kartoffelkultur 24 Std. 17°	Gußplatte	Agar	22	48	M + L	2 300	—	435	700	—	—
		Sprühplatte	„	22	48	L	10 700	—	10 700	10 700	—	—
111	Agarkultur 4 Tage 17°	Gußplatte	Agar	22	24	M	8 000	600	—	—	—	—
		Sprühplatte	„	22	24	L	23 200	23 200	—	—	—	—
112	Kartoffelkultur 24 Std. 17°, 1 ccm der Aufschwg. in 100 ccm Spreewasser	Gußplatte	Agar	22	48	M	13 400	—	428	646	—	—
		Sprühplatte	„	22	48	„	59 500	—	3 216	3 216	—	—
113	0,01 ccm der in Versuch Nr. 112 benutzt. Aufschwg. in 100 ccm Spreewasser	Gußplatte	Agar	22	48	M	13 400	—	3	9	—	—
		Sprühplatte	„	22	48	„	59 500	—	100	100	—	—
114	Sandfilterfiltrat eines Gemisches einer Aufschwemmung von B. prodigiosus Agarkultur 4 Tage 17°) mit Spreewasser — 2 Std. nach Zugabe der Kultur	Gußplatte	Agar	22	24	M	600	1	22	—	37	54
		Sprühplatte	„	22	24	L	5 500	282	402	—	402	402
115	3 Std. nach Zugabe der Kultur	Gußplatte	Agar	22	48	M	600	—	18	—	36	51
		Sprühplatte	„	22	48	L	3 800	—	295	—	295	295
116	Sandfilterfiltrat von Spreewasser, dem 7 Tage vorher Aufschwemmung von B. prodigiosus zugegeben war	Gußplatte	Gelat.	22	24	M	1 300	1 in 4 ccm	3	—	3	—
		Sprühplatte	„	22	24	L	4 400	18	18	—	18	—

Die Photogramme Nr. 5 und 6[1]) (Tafel III) zeigen zwei mit gleichen Mengen prodigiosushaltigen, durch ein Sandfilter filtrierten Spreewassers beschickte Agarplatten nach zwei Tage langem Wachstum. Die schwarzen, mit kleinen Spitzlichtern versehenen Kolonien bestehen aus Bacillus prodigiosus.

Nr. 5 gibt das Bild der Gußplatte, auf welcher sich nur eine kleine Prodigiosuskolonie entwickelt hat, Fig. 6 das der Sprühplatte mit 15 kräftig entwickelten, siegellacktropfenartigen Kolonien des Bacillus prodigiosus.

Überblickt man die vorstehend kurz geschilderten Versuche, so ergeben sich hauptsächlich folgende bemerkenswerte Tatsachen.

1. Die auf dem Wege des Sprühverfahrens gewonnenen oberflächlichen Kolonien wachsen im allgemeinen rascher aus als die Mehrzahl der Kolonien in den Gußplatten. Sie bilden sämtlich (auf Gelatine) charakteristische Formen und gegebenen Falls (z. B. Bacillus prodigiosus) Farbstoff. Diese Tatsachen sind nicht neu, bestätigen aber die auch von anderen Autoren an Oberflächenkulturen gemachten Beobachtungen.

2. In den Versuchen mit unfiltriertem und filtriertem Spreewasser, mit Brunnen- und Leitungswasser lieferten die Sprühplatten rund das 2—30fache der auf den Gußplatten gewachsenen Kolonien, berechnet auf die gleiche Menge des untersuchten Wassers.

3. Die Versuche mit Bakterienreinkulturen lassen eine Sonderung der hier benutzten 12 Bakterienarten, nach ihrem Verhalten in Sprüh- und Gußplatten, in zwei Gruppen erkennen. Die erste Gruppe umfaßt die Bakterien, welche unter allen Umständen, auf die gleiche Aussaatmenge berechnet, auf den Sprühplatten bedeutend mehr Keime ergaben als in den Gußplatten. Hierher gehören:

Vibrio Berolinensis ($1\frac{1}{2}$ — $6\frac{1}{2}$fache Keimmenge), Bacillus prodigiosus ($1\frac{1}{2}$ bis 17fache Keimmenge), Bacillus fluorescens liquefaciens (2,2—9fache Keimmenge), Proteus mirabilis (6—40fache Keimmenge), Micrococcus citreus agilis (16—36 fache Keimmenge), Staphylococcus pyogenes aureus (21—52fache Keimmenge).

Die Bakterien der zweiten Gruppe ergaben gewöhnlich auf den Sprühplatten die gleiche oder eine etwas geringere Keimzahl als in den Gußplatten. Bisweilen wurden auch etwas höhere Ergebnisse erzielt. Hierher gehören:

Bacterium typhi (lieferte auf den Sprühplatten die 0,08—1,0 fache Keimmenge), Bacterium coli (0,2—2,7fache Keimmenge), Bacillus megatherium (0,06 — 1,2fache Keimmenge), Bacillus paratyphi B. (die gleiche Keimmenge), und Bacillus subtilis (die gleiche Keimmenge).

Die Erklärung der obigen Befunde stößt teilweise auf gewisse Schwierigkeiten. Das rasche Auswachsen der Oberflächenkolonien, ihre charakteristische Gestaltung und die ungehemmte Farbstoffbildung sind zwar leicht zu verstehen; denn die auf die Oberfläche der Nährgelatine oder des Nähragars gebrachten Keime sind mechanisch

[1]) Unsere Photogramme sind von dem Technischen Rat Dr. Heise teils bei auffallendem, teils bei durchfallendem Licht hergestellt worden.

im Wachstum nicht durch den Nährboden gehemmt, die sauerstoffbedürftigen finden den Sauerstoff in bedeutend reichlicheren Mengen als im Innern des Nährbodens, und die Farbstoffbildung, welche gewöhnlich durch Oxydation einer Leukobase zustande kommt, geht bei ungehindertem Luftzutritt besser vor sich als im Innern des Substrates.

Der meist große Unterschied in der Anzahl der Kolonien auf Guß- und Sprühplatten dagegen ist nicht ohne weiteres verständlich. Man konnte zunächst an folgende Erklärung denken: Von allen Mikroorganismen, welche ein lebhaftes Sauerstoffbedürfnis haben, kommen diejenigen, welche in ihrer Lebenskraft schon etwas geschwächt sind, auf der Oberfläche der Kulturplatten, d. h. in breiter Berührung mit dem Sauerstoff der Luft zur Entwicklung, nicht aber, wenn sie in den Nährboden eingeschlossen werden. Derselbe enthält zwar gewöhnlich von vornherein gewisse Mengen von Luft und nimmt auch noch durch Diffusion Sauerstoff auf[1]), aber Menge und Konzentration reichen vielleicht nicht aus, um einen Anreiz zur Zellvermehrung und Koloniebildung zu geben.

Anderseits wäre es auch möglich, daß die Verhältnisse der Oberflächenkultur bei fakultativ anaeroben Keimen bis zu einem gewissen Grade eine wachstumshemmende Wirkung ausüben. Die nachfolgenden Versuche jedoch beweisen, daß durch diese Annahme allein die erhaltenen Ergebnisse sich nicht erklären lassen.

Zunächst wurde nämlich der Keimgehalt von filtriertem und unfiltriertem Spreewasser, von Leitungswasser und von Aufschwemmungen solcher Bakterienreinkulturen, welche nach ihrem Verhalten auf Sprühplatten ganz verschiedene Eigenschaften zeigten, mittels gewöhnlicher Gußplatte, mittels der Sprühplattenmethode und nach der oben (S. 147) beschriebenen Droßbachschen Methode geprüft (vergl. Tabelle XVI Seite 168). Die Zählung wurde für alle Platten nach derselben Entwicklungszeit vorgenommen.

Demnach wurden mittels der Droßbachschen Methode, wenigstens in bezug auf Keimzahl, nicht wesentlich andere Ergebnisse erzielt als mit der Gußplatte. Auch vant'Hoff[2]) fand mit seiner, der Droßbachschen ähnlichen Methode nur 5—10% Kolonien mehr als mit der Gußplatte (vergl. S. 148).

Legt man Gelatineplattenkulturen nach der Sprühmethode an, verflüssigt dann noch einmal kurz die Gelatine, um sie nach vollzogener Durchmischung, eventl. nach Zugabe neuer Gelatine, wieder erstarren zu lassen, oder besprüht man den Boden einer Petrischale und gibt dann erst die verflüssigte Gelatine bezw. den flüssigen Agar hinzu und mischt oder überschichtet man schließlich die besprühten Platten mit einer frischen Menge verflüssigter Gelatine oder flüssigen Agars, auch nach vorher erfolgtem Verdunsten der aufgesprühten Aufschwemmung, so erhält man nicht, wie man erwarten sollte, die gleichen Resultate wie in den Gußplatten. Wie aus der folgenden Zu-

---

[1]) Vergl. Hagenbach, Über Diffusion von Gasen durch wasserhaltige Gelatine. Annalen der Physik und Chemie. Neue Folge Band 65, S. 673.

[2]) A. a. O.

Tabelle XVI.

Versuch Nr.	Zum Versuch wurde benutzt	Keimgehalt in 1 ccm nach der		
		Gußplatte	Droßbachplatte	Sprühplatte
117	Leitungswasser	36	36	317
118	Spreewasser, filtriert durch Sandfilter	630	500	5 700
119	„	400	320	3 700
120	Spreewasser und Abwasser	313 000	292 000	2 289 000
121	Vibrio Berolinensis	5 100	4 400	21 400
122	„	4 400	5 000	8 600
123	„	3 900	5 000	5 300
124	„	4 300	4 700	8 100
125	Staphyl. pyog. aureus	7 700	7 600	277 400
126	„	1 700	2 400	87 800
127	Micrococcus citreus agilis	1 500	1 300	23 100
128	„	10 100	14 200	159 400
129	„	12 300	14 400	403 200
130	Bacterium coli St. Σ	2 300	2 200	1 400
131	„	5 000	5 500	1 700
132	„	3 100	3 000	3 100
133	„	2 700	2 700	1 100
134	„	3 000	3 200	1 200
135	„	4 800	4 900	2 200
136	„	4 900	4 900	900
137	Bacterium coli St. a	2 800	2 500	7 600
138	„	3 600	3 900	5 000
139	„	3 100	3 800	6 600
140	„	1 600	1 900	1 300
141	Bacterium typhi St. Coblenz	2 600	2 600	800
142	„ typhi St. 234	2 700	2 500	600
143	„ typhi St. 194	2 500	2 800	900
144	„	6 700	6 300	6 800
145	„	5 300	5 200	2 600
146	„	10 500	10 400	5 700
147	„	6 800	7 000	6 500
148	„	6 500	6 500	5 700
149	Bacillus megatherium	12 200	11 500	1 800

sammenstellung ersichtlich (siehe Tabelle XVII Seite 169), findet man vielmehr, daß bei Verwendung von Reinkulturen die überschichteten Sprühplatten annähernd die gleichen Zahlen ergeben wie die Sprühplatten. Bei der Aussaat von Wasserkeimen aber wachsen auf den überschichteten Sprühplatten sogar noch etwas mehr Kolonien heran als auf den nicht überschichteten, was wohl durch das Auswachsen einer Anzahl sauerstoffscheuerer Keime zu erklären sein dürfte. Stimmen Guß- und Sprühplatten annähernd überein, so ergeben, wie zu erwarten war, auch die überschichteten Sprühplatten mit jenen übereinstimmende Keimzahlen.

Tabelle XVII.

Versuch Nr.	Herkunft des untersuchten Wassers bezw. der Bakterienart	Zum Versuch benutzter Nährboden	Keimzahl in 1 ccm nach den Gußplatten	Sprühplatten	behandelte Sprühplatten	Art der Behandlung
150	Spreewasser	Gelatine	40 000	222 000	233 000	besprüht und dann verflüssigt
151	„	„	51 000	272 000	319 000	besprüht und nachträglich mit Gelatine überschichtet
152	„	„	81 000	744 000	990 000	„
153	„	„	79 000	725 000	793 000	„
154	Brunnenwasser	„	4 800	50 700	52 000	„
155	Vibrio Berolinensis	„	3 700	5 300	4 700	besprüht, verflüssigt und überschichtet
156	Bacterium coli St. Σ	„	89 000	91 000	93 000	besprüht und nachträglich mit Gelatine überschichtet
157	Bacterium Paratyphi B	Agar	291 700	281 300	286 600	besprüht, dann bei 37° getrocknet und mit Agar überschichtet
158	Bacterium typhi St. Coblenz	„	196 200	58 900	60 100	„
159	Bacterium typhi St. 194	„	253 300	56 200	56 200	„
160	„	„	411 900	10 200	9 900	„
161	Bacterium typhi St. 234	„	188 300	60 400	72 400	„
162	„	„	185 800	78 600	74 400	„

Ein dritter Beweis dafür, daß nicht in dem größeren Sauerstoffvorrat die Hauptursache zu sehen ist, daß auf den Sprühplatten in dem einen Falle bedeutend mehr, im anderen beträchtlich viel weniger Keime als in den Gußplatten auswachsen, wurde in der Weise erbracht, daß die Platten sofort nach dem Besprühen in einen Anaerobenapparat überführt wurden, aus dem dann die Luft durch Stickstoff verdrängt wurde.

Wenn auch der benutzte, käufliche Stickstoff noch etwa 0,5 % Sauerstoff enthielt, so war doch in dem Apparat der Sauerstoffdruck ein sehr verminderter gegenüber den Vergleichsplatten. Wie die Zusammenstellung der hierher gehörigen wenigen Versuche (Tabelle XVIII) zeigt, werden die Typhus- und Kolikeime wie auch Staphylococcus pyogenes aureus durch den Stickstoff, soweit die Keimzahl in Frage kommt, überhaupt nicht beeinflußt. Bei den Versuchen mit Spreewasser wird allerdings durch die Kultur in Stickstoff das Wachstum auf den Sprühplatten etwas behindert. Während aber die Begünstigung durch das Versprühen das 7 fache der Gußplatten ausmacht (s. Seite 153), wird durch Sauerstoffentzug nicht ganz die Hälfte der Keime der Sprühplatten zurückgehalten. Da die Zählungen bereits nach 24 Stunden ausgeführt sind, so wäre es außerdem ganz gut denkbar, daß nach 48 Stunden sich das Verhältnis

noch mehr zugunsten der in Stickstoffatmosphäre gehaltenen Platten verschieben würde. Aber träfe diese Vermutung auch nicht zu, so müßte immer noch für den beträchtlicheren Teil der Vermehrung eine andere Erklärung gesucht werden.

Tabelle XVIII.

Versuch Nr.	Herkunft des untersuchten Wassers bezw. der Bakterienart	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl in 1 ccm nach den Sprühplatten in Luft	Stickstoff	Verhältnis von Luft- zu Stickstoffplatten
163	Spreewasser	Agar	37	24	L	5 300	3 700	1 : 0,7
164	Spreewasser	Agar	37	24	L	2 400	1 400	1 : 0,58
165	Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Agar Gelatine	37 17	24 48	L „	124 400 122 600	125 200 121 600	1 : 1,0 1 : 0,99
166	Bacterium typhi St. G., Agarkultur 20 Std. 37°	Agar Gelatine	37 17	24 48	L „	47 900 52 900	48 600 51 900	1 : 1,0 1 : 0,98
167	Bacterium typhi St. G., Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	L	31 800	33 500	1 : 1,1
168	Staphylococcus pyogenes aureus, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M	66 100	72 800	1 : 1,1

Es wurde zunächst daran gedacht, ob nicht die feine mechanische Verteilung des Wassers bei der Anlage von Sprühplatten eine Rolle spiele. Die Möglichkeit war nicht ausgeschlossen, daß durch das Versprühen Bakterienverbände gesprengt werden, welche in der Gußplatte vereint bleiben und nur eine Kolonie liefern. Um diese Frage zu klären, wurde folgender Versuch angestellt. In zwei sterilisierte Kölbchen wurden gleiche Mengen Spreewasser, welches vorher durch Watte filtriert war, gefüllt. Zu beiden Proben wurde eine gleich große Zahl sterilisierter Glasperlen hinzugefügt und nun das eine Kölbchen 10 Minuten lang mit den Glasperlen kräftig geschüttelt, während das andere ruhig stehen blieb. Es stand zu erwarten, daß durch das Schütteln etwaige Bakterienverbände getrennt werden würden. Von dem Wasser beider Kölbchen wurden mit Nährgelatine die üblichen Gußplatten angelegt.

In gleicher Weise wurde ein Versuch mit einer Aufschwemmung einer 20 Stunden alten, bei 37° gehaltenen Agarkultur von Staphylococcus pyogenes aureus angestellt (vergl. Tabelle XIX Seite 171).

Eine geringe Zunahme der Keime ist also anscheinend durch das Schütteln eingetreten, doch ist es nicht ausgeschlossen, daß dieses Mehr auch auf Rechnung der durch das Schütteln herbeigeführten starken Durchlüftung zu setzen ist. Aber hiervon ganz abgesehen, erreicht der in den Gußplatten gefundene Unterschied nicht

Tabelle XIX.

Versuch Nr.	Herkunft des untersuchten Wassers bezw. der Bakterienart	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl in 1 ccm der nicht geschüttelten Aufschwemmung	Keimzahl in 1 ccm der geschüttelten Aufschwemmung	Verhältnis von nicht geschüttelter zu geschüttelter Aufschwemmung
169	Spreewasser	Gelatine	22	48	L	71 000	74 700	1 : 1,05
		"	22	48	M	95 700	98 900	1 : 1,03
170	Staphylococcus pyogenes aureus, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M	3 100	4 300	1 : 1,39

entfernt die Größe, welche das Zahlenverhältnis zwischen Guß- und Sprühplatten sonst (vergl. Tabelle I und XII) ergab, und zur Erklärung der Fälle, in denen die Sprühplattenergebnisse hinter denen der Gußplatte zurückbleiben, ist durch diesen Versuch nichts gewonnen.

Obwohl nun schon eingangs (Seite 149) hervorgehoben wurde, daß es auf die Ergebnisse anscheinend ohne jeden Einfluß ist, ob zum Versprühen komprimierter Stickstoff oder komprimierte Luft verwendet werden, so wurde diese Frage doch noch einer eingehenden Prüfung unterzogen. Während die früheren Versuche fast ausschließlich mit Flußwasser angestellt worden waren (vergl. Tabelle I, Nr. 6 und 7), wurden jetzt Reinkulturen verwendet und außer den beiden erwähnten Gasen auch noch Wasserstoff, Sauerstoff und Kohlensäure in den Kreis der Betrachtung gezogen. Bei einem Teil der Versuche wurde dieselbe Bakterienaufschwemmung hintereinander mittels der verschiedenen Gase versprüht. Das betreffende Gas wurde jedesmal vor dem Versuch so lange durch den Trichter geleitet, daß mit Sicherheit die völlige Entfernung des vorher benutzten Gases angenommen werden konnte. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle XX (Seite 172 und 173) zusammengestellt.

Sie lassen sich dahin zusammenfassen, daß, wenn man zunächst von der Einwirkung der Kohlensäure absieht, alle unter Verwendung von Luft, Stickstoff, Wasserstoff und Sauerstoff angestellten Versuche gut miteinander übereinstimmen. In keinem Falle wird das Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten, welches unter Anwendung von Luft erhalten wurde, durch Benutzung eines der angeführten Gase umgekehrt. Ob aus den erhaltenen unbedeutenden Schwankungen in einigen Fällen auf eine spezifische Wirkung des verwendeten Gases geschlossen werden kann, soll hier nicht näher erörtert werden.

Auch die Kohlensäure beeinflußt Kulturen von Bacterium typhi und Bacterium coli nicht in anderer Weise wie die Luft. In einer Aufschwemmung von Vibrio Berolinensis dagegen werden schon durch 15 Minuten langes Durchleiten dieses Gases die Keime derartig geschädigt, daß in einer Gußplatte nur noch der 17. Teil der anfänglich vorhandenen Keime auswächst, während die Kolonienzahl auf den Sprühplatten nur um das Dreieinhalbfache zurückgegangen ist. Diese Schädigung kann auch nicht durch gleich darauffolgendes Durchlüften beseitigt oder gemildert werden. Gleichzeitig

Tabelle XX.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Zum Versprühen benutztes Gas	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
171	Bact. typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M + L [1]	Luft	2 000	250	1 : 0,13
						Stickstoff	2 100	250	1 : 0,12
		Gelatine	17	48	"	Luft	1 800	300	1 : 0,17
						Stickstoff	2 000	275	1 : 0,14
172	Bact. typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft	7 300	6 900	1 : 0,95
						Stickstoff	6 900	7 300	1 : 1,0
						Luft	6 800	6 500	1 : 0,96
173	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M + L	Luft	2 500	600	1 : 0,24
						Stickstoff	3 000	1 100	1 : 0,37
		Gelatine	17	72	"	Luft	2 100	1 000	1 : 0,48
						Stickstoff	3 300	1 100	1 : 0,33
174	Vibrio Berolinensis, Agarkultur 20 Std. 37°	Agar	37	24	M + L	Luft	3 600	14 700	1 : 4,1
						Stickstoff	2 500	21 100	1 : 8,4
		Gelatine	17	72	"	Luft	3 800	16 000	1 : 4,2
						Stickstoff	2 500	23 600	1 : 9,4
175	Bact. typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft	6 100	3 300	1 : 0,54
						Wasserstoff	5 900	4 300	1 : 0,73
176	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft	4 900	900	1 : 0,18
						Wasserstoff	4 600	900	1 : 0,2
177	Bact. coli St α, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	Luft	3 100	6 600	1 : 2,1
						Wasserstoff	3 300	6 400	1 : 1,9
178	Vibrio Beroliniensis, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft	4 400	8 100	1 : 1,8
						Wasserstoff	4 900	10 000	1 : 2,0
						Luft	4 600	10 600	1 : 2,3
179	Bact. typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft	10 500	5 700	1 : 0,54
						Sauerstoff	10 400	5 500	1 : 0,52
						Luft	10 300	5 300	1 : 0,51
180	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft	4 400	2 200	1 : 0,50
						Sauerstoff	4 800	1 700	1 : 0,36
						Luft	4 800	2 200	1 : 0,46

[1] In allen Versuchen, die durch eine Klammer verbunden sind, wurde dieselbe Aufschwemmung benutzt. In den übrigen wurden für jede Gasart besondere Aufschwemmungen benutzt, die aber von der gleichen Kultur hergestellt wurden und möglichst gleiche Mengen der Originalaufschwemmung enthielten.

Tabelle XX (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Zum Versprühen benutztes Gas	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
181	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	Luft Sauerstoff Luft	4 300 4 400 4 100	1 600 1 100 1 800	1 : 0,37 1 : 0,25 1 : 0,44
182	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Sauerstoff Luft	4 000 4 100 4 100	1 400 1 000 800	1 : 0,35 1 : 0,24 1 : 0,20
183	Bact. coli St. α, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	Luft Sauerstoff Luft	3 600 3 200 3 200	5 000 4 800 4 900	1 : 1,4 1 : 1,5 1 : 1,5
184	Bact. coli St. α, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	Luft Sauerstoff Luft	1 600 1 500 1 600	1 300 1 000 1 300	1 : 0,81 1 : 0,67 1 : 0,81
185	Vibrio Beroliniensis, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Sauerstoff Luft	4 300 4 300 4 100	8 600 9 400 9 900	1 : 2 1 : 2,2 1 : 2,4
186	Bact. typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Kohlensäure Luft	5 300 5 400 5 300	2 000 2 400 2 500	1 : 0,38 1 : 0,44 1 : 0,47
187	Bact. typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Kohlensäure Luft	6 800 6 800 6 500	6 500 5 600 5 400	1 : 0,96 1 : 0,82 1 : 0,83
188	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Kohlensäure Luft	4 100 3 800 3 600	800 1 000 800	1 : 0,2 1 : 0,26 1 : 0,22
189	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	Luft Kohlensäure	3 200 3 100	1 500 1 900	1 : 0,47 1 : 0,61
190	Bact. coli St. α, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	Luft Kohlensäure Luft	1 600 1 600 1 400	1 300 900 800	1 : 0,81 1 : 0,56 1 : 0,57
191	Vibrio Beroliniensis, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Kohlensäure	45 0	700 0	1 : 16 0
192	Vibrio Beroliniensis, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	Luft Kohlensäure Luft	5 100 300 30	21 500 6 100 130	1 : 4,2 1 : 20 1 : 4,3

nach dem Verfahren von Droßbach angelegte Platten ergaben dieselben niedrigen Zahlen wie die Gußplatten.

Aus den Versuchen mit den oben genannten Gasen muß gefolgert werden, daß die auf den Sprühplatten erhaltenen abweichenden Ergebnisse nicht durch die Art des zum Versprühen benutzten Gases bedingt sind. Dafür sprechen auch die Versuche mit Vibrio Berolinensis unter Verwendung der für diese Bakterienart offenbar sehr schädlichen Kohlensäure. Hier kann die Art des Gases als Ursache für die höhere Keimzahl auf den Sprühplatten nicht in Betracht kommen, ebensowenig der ungehinderte Luftzutritt zu den oberflächlich geimpften Platten; denn mit Hilfe der Droßbachplatten wurden dieselben Resultate wie in den Gußplatten erhalten. Die Erklärung ist daher, da unseres Erachtens Messungsfehler ausgeschlossen sind, allein in dem Vorgang des Versprühens zu suchen, wodurch im einen Falle ein entwicklungsfördernder „Reiz" ausgeübt wird, im anderen dagegen die Entwicklungsfähigkeit der Keime geschädigt wird. Wie dieser „Reiz" zustande kommt, dafür haben wir einstweilen allerdings noch keine einigermaßen sichere Erklärung.

Vergegenwärtigen wir uns die Zahlen aus den Tabellen IV bis XIV, welche das Keimzahlenverhältnis zwischen Guß- und Sprühplatten bei Benutzung von Reinkulturen angeben, so muß es auffallen, daß diese Zahlen bei Benutzung der gleichen Bakterienart bedeutenden Schwankungen unterworfen sind. Als Ursachen hierfür kämen die Art des Nährbodens, die Temperatur, bei der die Platten gehalten wurden, der Keimgehalt der benutzten Aufschwemmungen bezw. Wässer und die Beschaffenheit der benützten Kultur in Frage.

Der Art und Zusammensetzung des Nährbodens, deren Einfluß auf die Bestimmung der Keimzahl von Wässern unter anderen von Prall[1]) eingehend untersucht worden ist, kann in unserem Falle eine Bedeutung nicht zugeschrieben werden, da in allen Versuchen für Guß- und Sprühplatten jedesmal Nährboden der gleichen Kochung verwendet wurde, und die verschiedenen Kochungen genau nach derselben Vorschrift ausgeführt wurden. Ebensowenig fällt der Temperaturfaktor ins Gewicht, da selbstverständlich die Vergleichsplatten bei gleicher Temperatur gehalten wurden, und bei Anwendung von Temperaturen unterhalb des Optimums die Zeit des Zählens entsprechend hinausgeschoben wurde. Bei Benutzung von Bakteriengemischen (Wässern) wurden nie Temperaturen über 22° in Anwendung gebracht. Wie aus der Zusammenstellung in Tabelle XXI ersichtlich, macht sich auch tatsächlich bei Verwendung gleicher Bakterienaufschwemmungen, gleichgültig ob Gelatine oder Agar benutzt wurde und Temperaturen von 37° oder 17° in Anwendung kamen, ein Unterschied in den Verhältniszahlen zwischen Guß- und Sprühplatten nicht oder nur in ganz geringem Grade bemerkbar. Mit zunehmender Verdünnung der benutzten Aufschwemmung verschiebt sich das Verhältnis etwas zugunsten der Sprühplatten (Tabelle XXII). Bei den mit Wässern von verschiedenem Keimgehalt erhaltenen Zahlen entzieht es sich jedoch der Beurteilung, inwieweit die Ergebnisse durch eine verschiedene Zusammensetzung der Bakterienflora bedingt sind.

---

[1]) A. a. O.

Tabelle XXI.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis der Keimzahlen von Guß zu Sprühplatten
193	Proteus mirabilis, Agarkultur 20 Stunden 22 °	Agar Gelatine	22 22	24 24	M „	58 300 55 800	1 691 700 1 156 700	1 : 29 1 : 21
194	Proteus vulgaris, Agarkultur 20 Std. 21 °	Agar Gelatine	22 22	24 24	M „	371 100 333 300	903 000 987 000	1 : 2,4 1 : 2,9
195	Vibrio Berolinensis, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar Gelatine	37 17	24 72	M + L „	3 600 3 800	14 700 16 000	1 : 4,1 1 : 4,2
196	Vibrio Berolinensis, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar Gelatine	37 17	24 72	M + L „	2 500 2 500	21 100 23 600	1 : 8,4 1 : 9,4
197	Bakterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar Gelatine	37 17	24 72	M + L „	3 000 3 300	1 100 1 100	1 : 0,37 1 : 0,33
198	Bakterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar „ Gelatine	37 22 17	48 48 48	M + L „ „	4 300 — 4 400	4 000 4 500 4 600	1 : 0,93 — 1 : 1
199	Bakterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar „ Gelatine	37 22 17	48 48 48	M + L „ „	3 700 — 3 700	1 300 1 400 1 350	1 : 0,35 — 1 : 0,36
200	Bakterium typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar Gelatine	37 17	24 72	M + L „	16 000 16 500	2 200 2 300	1 : 0,14 1 : 0,14
201	Bakterium typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar „ Gelatine	37 22 17	24 72 72	M + L „ „	2 000 — 1 800	250 250 300	1 : 0,13 — 1 : 0,17
202	Bakterium typhi St. 194, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar Gelatine	37 17	24 72	M + L „	2 100 2 050	250 275	1 : 0,12 1 : 0,13
203	Bakterium typhi St. Coblenz, Agarkultur 48 Std. 17 °	Agar Gelatine	37 17	24 72	M + L „	308 900 382 300	68 400 73 400	1 : 0,22 1 : 0,19
204	Bakterium typhi St. G., Agarkultur 48 Std. 17 °	Agar Gelatine	37 22	24 48	M + L „	165 600 196 000	12 600 14 900	1 : 0,08 1 : 0,08

Tabelle XXII.

Versuch Nr.	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Benutzte Verdünnung	Keimzahl nach den Gußplatten	Keimzahl nach den Sprühplatten	Verhältnis der Keimzahlen von Guß- zu Sprühplatten
205	Bact. megatherium, Agarkultur 48 Std. 22 °	Gelatine	22	24	M	I II	2 404 600 58 700	1 255 800 51 000	1 : 0,52 1 : 0,87
206	Bact. coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37 °	Gelatine	22	24	M	I II	271 900 54 800	122 300 48 300	1 : 0,45 1 : 0,88
207	Bact. typhi St. Coblenz, Agarkultur 20 Std. 37 °	Agar	37	24	M + L	I II	308 900 2 600	68 400 800	1 : 0.22 1 : 0,31
208	Bact. typhi St. Coblenz, Agarkultur 48 Std. 17 °	Agar	37	24	M + L	I II	131 100 600	18 900 120	1 : 0,14 1 : 0.2
209	Bact. typhi St. G., Agarkultur 20 Std. 37 °	Gelatine	22	24	M	I II	384 300 42 700	53 200 6 700	1 : 0.14 1 : 0,16
210	Spreewasser	Gelatine	22	24	M		105 500	503 600	1 : 4,8
211	Spreewasser	Gelatine	22	24	M		28 700	217 300	1 : 7,6
212	Brunnenwasser	Gelatine	22	24	M		3 300	55 300	1 : 17
213									

Was die Beschaffenheit der Kultur anlangt, so war es uns bei den Versuchen mit Bacterium coli aufgefallen, daß wir in den zeitlich zuerst angestellten Versuchen Ergebnisse erzielten, die einen Unterschied zwischen Sprüh- und Gußplatten nicht ergaben, daß sich dann aber plötzlich die Verhältnisse zu ungunsten der Sprühplatten änderten (vergl. Tabelle XXIII, Versuch 214—217). Da wir durch wiederholte Versuche diese Änderung bestätigen konnten, so konnten wir uns dieses Verhalten nur als eine durch die lange Kultur in nicht optimalen Verhältnissen und das wiederholte Überimpfen bedingte Degenerationserscheinung erklären. Der Verlust bezw. die Abänderung der Eigenschaften der Bakterien infolge langer Fortzüchtung, wir erinnern nur an die Farbstoffbildung, die Virulenz usw.[1]), ist ja eine oft beobachtete Erscheinung. Da es nun von Interesse war, festzustellen, wie sich eine frisch isolierte Kultur auf den Sprühplatten verhalten würde, wurden mit dem frisch aus Menschenkot gezüchteten Bact. coli Stamm α einmal gleich nach der Isolierung (vergl. Tabelle XXIII, Versuch 218),

[1]) Vergl. E. Gottschlich, Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. In Kolle u. Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen Bd. 1, S. 123.

Tabelle XXIII.

Versuch Nr.	Datum des Versuchs	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
							Gußplatten	Sprühplatten	
214	20. 2. 08	Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	22	24	M	87 800	87 500	1 : 1
215	5. 3. 08	Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 48 Std. 37°	Gelatine	22	48	M	92 800	98 000	1 : 1,1
216	12. 3. 09	Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	4 900	900	1 : 0,18
217	19. 3. 09	Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	72	M + L	4 000	1 400	1 : 0,35
218	25. 2. 09	Bacterium coli St. α, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	2 800	7 600	1 : 2,7
210	3. 3. 09	Bacterium coli St. α, Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	3 600	5 000	1 : 1,4
220	20. 3. 09	Bacterium coli St. α. Agarkultur 20 Std. 37°	Gelatine	17	48	M + L	1 600	1 300	1 : 0,81

sodann eine Woche und $3^{1}/_{2}$ Wochen später (Tabelle XXIII, Versuch 219 u. 220) Versuche angestellt, aus denen hervorgeht, daß in unserem Falle schon nach ca. vier Wochen bei mehrmaligem Überimpfen eine Änderung im Verhalten gegenüber den Einflüssen des Versprühens eingetreten ist.

In Tabelle XXIV endlich sind Versuche zusammengestellt, welche darüber aufklären sollten, wie Aufschwemmungen verschieden alter Kulturen desselben Stammes durch das Versprühen beeinflußt werden. Man kann die Ergebnisse, wie folgt, zusammenfassen. Handelt es sich um Bakterien, welche durch das Versprühen begünstigt werden, so ist diese Begünstigung in jungen Kulturen bedeutend größer als in alten; kommen dagegen Bakterien in Frage, die geschädigt oder nicht begünstigt werden, so ist die Schädigung in alten Kulturen bedeutend geringer als in jungen oder wird dort überhaupt gänzlich aufgehoben. Eine einheitliche Erklärung dieser Befunde erscheint nicht schwierig. Durch eingehende Untersuchungen, insbesondere

Tabelle XXIV.

Versuch Nr.	Datum des Versuchs	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
							Gußplatten	Sprühplatten	
221	30. 4. 09	Staphylococcus pyogenes aureus, Agarkultur 64 Tage bei 17°	Gelatine	17	72	M	7 700	277 400	1 : 36
222		Staphylococcus pyogenes aureus, Agarkultur bei 37°, 20 Std. abgeimpft am 29. 4. von der 64 Tage alten Kultur	Gelatine	17	72	M	1 700	87 800	1 : 52
223	3. 5. 09	Micrococcus citreus agilis, Agarkultur 64 Tage bei 17°	Gelatine	22	48	M	10 100	159 400	1 : 16
224		Micrococcus citreus agilis, Agarkultur 48 Std. bei 22°, abgeimpft am 1. 5. von der 64 Tage alten Kultur	Gelatine	22	48	M	11 300	403 200	1 : 36
225	3. 5. 09	Bacillus megatherium Agarkultur 64 Tage bei 17°	Gelatine	22	48	M + L	55 700	64 500	1 : 1,2
226		Bacillus megatherium Agarkultur 48 Std. bei 22°, abgeimpft am 1. 5. von der 64 Tage alten Kultur	Gelatine	22	48	M + L	43 500	2 700	1 : 0,06
227	30. 4. 09	Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 44 Tage bei 17°	Gelatine	17	72	M	68 900	79 500	1 : 1,2
228		Bacterium coli St. Σ, Agarkultur 20 Std. bei 37°, abgeimpft von der 44 Tage alten Kultur	Gelatine	17	72	M + L	6 800	1 500	1 : 0,22

Versuch Nr.	Datum des Versuchs	Art und Alter der Kultur	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Zählung nach ? Stunden	Art der Zählung	Keimzahl nach den		Verhältnis von Guß- zu Sprühplatten
							Gußplatten	Sprühplatten	
229	25. 3. 09	Bacterium typhi St. 194 Agarkultur 14 Tage bei 17°	Gelatine	17	96	M + L	6 500	5 700	1 : 0,88
230		Bacterium typhi St. 194 Agarkultur 20 Std. bei 37°, abgeimpft am 24. 3. von der 14 Tage alten Kultur	Gelatine	17	96	M + L	7 600	1 300	1 : 0,17

von Ficker[1]), ist dargetan worden, daß mit zunehmendem Alter der Bakterienkultur die Widerstandsfähigkeit der Individuen gegen schädigende Einflüsse bedeutend gesteigert wird. Je jünger also eine Kultur ist, um so empfindlicher, um so reizbarer ist sie.

Unsere Versuche, die bei Benutzung von Guß- und Sprühplatten erhaltene Abweichung in den Keimzahlen zu erklären, haben uns zu der Annahme geführt, daß durch das Versprühen in dem einen Falle ein entwicklungsfördernder, im anderen ein entwicklungshemmender Einfluß ausgeübt wird. Im ersten Falle muß nach den obigen Ausführungen die Förderung um so augenfälliger werden, je mehr beeinflußbare Keime vorhanden sind, also bei Verwendung einer jungen Kultur. Umgekehrt wird die Schädigung um so geringer sein, je weniger empfindliche Individuen in der Aufschwemmung enthalten sind, je älter also die Kultur ist. Wir sind geneigt, in der wechselnden Empfindlichkeit der Keime, die sehr wahrscheinlich auch noch durch andere Ursachen beeinflußt wird, die Hauptursache für die kleineren Schwankungen zu sehen, welche in dem Keimzahlenverhältnis von Guß- und Sprühplatten bei Benutzung anscheinend gleichartiger Reinkulturen solcher Bakterien gefunden wurden, die auch nach längerem Fortzüchten auf künstlichen Substraten nicht so auffällige Änderungen erkennen ließen als z. B. Bacterium coli.

Schließlich haben wir die Ergebnisse unserer Versuche auch daraufhin durchgesehen, ob etwa die Endzahl der zählbaren Kolonien auf den Sprühplatten früher erreicht wird als auf den Gußplatten, denn das späte Nachwachsen und Aufkeimen von Bakterienkolonien auf Gelatine- und Agarplatten wird stets bei quantitativen bakteriologischen Wasseruntersuchungen als sehr störend empfunden. Der Beantwortung dieser Frage, wenigstens soweit es sich um Gelatineplatten handelt, werden dadurch Schwierigkeiten bereitet, daß die mit Wasser oder verflüssigenden Keimen

[1]) Ficker, Über Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 29, S. 1.

Tabelle XXV.

Versuch Nr.	Untersuchte Flüssigkeit	Für die Platten benutzter Nährboden	Platten aufgehoben bei Temperatur von °	Art der Zählung	Zählung nach ? Stunden	Keimzahl nach den Gußplatten	Zunahme in %	Keimzahl nach den Sprühplatten	Zunahme in %
231	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	13 000 19 000	46,2	— —	—
232	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	106 000 126 000	24,5	— —	—
233	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	— —	—	777 000 744 000	keine
234	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	— —	—	726 000 725 000	keine
235	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	29 000 40 000	37,9	219 000 222 000	1,4
236	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	43 000 51 000	18,6	290 000 272 000	keine
237	Spreewasser	Gelatine	22	M	24 48	20 000 24 000	20	65 000 68 000	4,6
238	Spreewasser nach Filtration durch Sandfilter	Gelatine	22	M	24 48	400 1 400	250	3 700 13 500	265
239	Brunnenwasser	Gelatine	22	M	24 48	3 300 4 700	42,4	55 300 50 700	keine
240	Aufschwemmung von B. prodigiosus	Agar	22	M	24 48	625 000 716 000	14,6	909 000 896 000	keine
241	Aufschwemmung von B. prodigiosus	Agar	22	M	24 48	29 000 30 000	3,5	509 000 509 000	keine
242	Aufschwemmung von B. fluorescens liquefaciens	Gelatine	22	M	24 48	665 000 625 000	keine	6 232 000 5 783 000	keine
243	Aufschwemmung von B. fluorescens liquefaciens	Gelatine	22	M	24 48	552 000 596 000	8,0	3 980 000 4 167 000	4,7
244	Aufschwemmung von B. coli	Gelatine	22	M	24 48	86 000 93 000	8,1	109 000 111 000	1,9

beschickten Sprühplatten des an und für sich schnelleren Wachstums ihrer Kolonien wegen, und weil die Verflüssigung durch peptonisierende Bakterienarten durch den Luftzutritt begünstigt zu werden scheint, gewöhnlich höchstens 48 Stunden lang aufbewahrt und nach dieser Zeit nicht mehr gezählt werden können.

Aus unserem Material, das aus äußeren Gründen nur ein wenig mannigfaltiges sein konnte, sollen hier nur die Versuche herangezogen werden, bei welchen mikroskopisch gezählt wurde, da die Lupenzählung nach 24 Stunden auch bei Sprühplatten nicht immer zu endgültigen Zahlen zu führen scheint.

Die Zusammenstellung in Tabelle XXV läßt, wie wir glauben, wenigstens soviel erkennen, daß bei Verwendung von unfiltriertem Spree- und Brunnenwasser die Sprühplatten nach 24 Stunden meist keine Zunahme der Kolonien mehr zeigen, wohl aber die Gußplatten. Nur in dem einen Falle, wo Spreewasser benutzt wurde, das ein Sandfilter passiert hatte (vergl. Tabelle XXV, Versuch 238), trat auch auf den Sprühplatten nach 24 Stunden noch eine erhebliche Vermehrung der Kolonien ein. Anders scheinen sich die Aufschwemmungen von Reinkulturen zu verhalten. Hier findet gewöhnlich auch bei den Gußplatten nach 48 Stunden keine erhebliche Vermehrung der Kolonien statt. Die Unterschiede, namentlich bei den hohen Zahlen, liegen hier wohl innerhalb der Versuchsfehler.

Schlußfolgerungen.

1. Mit Hilfe unseres „Sprühverfahrens“ ist es möglich, auch von sehr keimreichen Wässern, ohne vorherige Verdünnung mit sterilem Wasser, Kulturplatten für Untersuchungen sowohl qualitativer als auch quantitativer Art anzulegen.

2. Die Versprühung des Wassers, bezw. der zu untersuchenden Flüssigkeit kann mit Hilfe eines Apparates geschehen, bei welchem die Gefahr der Infektion durch versprühte Teilchen ausgeschlossen ist.

3. Die „Sprühplatten“ fallen weit gleichmäßiger aus, als die z. B. bei der Typhus- und Choleradiagnose gebräuchlichen Ausstrichplatten.

4. Die Kolonien auf den mit Hilfe unserer Methode hergestellten Platten liegen sämtlich an der Oberfläche, so daß sie ungehindert in der ihnen charakteristischen Form auswachsen können, ein Umstand, der für die Differentialdiagnose der Bakterien nicht unwichtig ist.

Farbstoffbildende Bakterienarten bilden den Farbstoff besser und schneller bei dem durch die oberflächliche Lagerung der Kolonien gewährleisteten ungehinderten Sauerstoffzutritt. Unsere Methode verdient daher Beachtung bei allen Versuchen, bei welchen solche farbstoffbildenden Bakterien (B. prodigiosus u. a.) zur Anwendung gelangen, also namentlich bei Prüfungen natürlicher und künstlicher Bodenfilter auf Keimdichtigkeit. Die Methode gestattet ferner, die sich entwickelnden Bakterien besser auf ihr Verhalten gegen Gase (Sauerstoffanwesenheit, Sauerstoffabwesenheit, Kohlensäure usw.) zu prüfen, als das mit der Gußplatte möglich ist.

5. Bei der Anlage von „Sprühplatten“ aus Trinkwasser, Flußwasser u. dergl. pflegt das Auswachsen der Keime zu Kolonien an der Oberfläche so schnell vor sich zu gehen, daß diese Entwickelung nach 24 Stunden im wesentlichen abgeschlossen

und so weit vorgeschritten ist, daß eine Zählung der Kolonien bereits zu brauchbaren Ergebnissen führt. Hierdurch kann unter Umständen die Zeit zwischen Entnahme der Wasserprobe und Feststellung der Keimzahl bei der bakteriologischen Wasserwerkskontrolle, verglichen mit der bisher üblichen Wartezeit, auf die Hälfte verkürzt werden. Durch systematische Untersuchungen an geeigneten zentralen Wasserversorgungsanlagen müßte die angegebene Methode auf ihre praktische Brauchbarkeit geprüft werden.

6. Mit dem „Sprühverfahren" erhält man aus ein und derselben Bakterienaufschwemmung bei einer Reihe von Bakterienarten weit höhere Keimzahlen (bis um das 52fache) als mit der üblichen Gußplattenmethode, bei anderen Arten annähernd die gleiche Zahl und bei gewissen Arten (z. B. dem Typhusbazillus) niedrigere Keimzahlen als mittels der Gußplatte.

Für die Isolierung von Typhusbazillen aus Wasser kann trotz der ungünstigen Beeinflussung derselben durch das Versprühen dieses Verfahren in allen den Fällen mit Vorteil angewendet werden, wo man sonst Gußplatten zu benutzen pflegt, da bei diesen auch nur die zufällig an der Oberfläche der Platten zur Entwicklung gekommenen Typhuskolonien benutzt werden können, und die Zahl dieser nur einen Bruchteil der im Innern der ganzen Gelatineplatte verteilten Kolonien darstellt.

7. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dieses von uns beobachtete eigenartige Verhalten, falls weitere Versuche seine Gesetzmäßigkeit bestätigen, eine Ergänzung der bisher bekannten Eigenschaften der Bakterien darstellt, welche nicht nur vom systematischen und biologischen Standpunkte aus interessant, sondern auch für die Frage der Oberflächeninfektion von Bedeutung ist.

8. Um die Ursachen für die unter 6 angeführten Beobachtungen festzustellen, wurden nach den verschiedensten Richtungen hin Versuche ausgeführt, welche jedoch die Frage bisher nicht völlig geklärt haben.

Die Methode kann vielleicht durch Anwendung einer Filterplatte von gleichmäßigerer Durchlässigkeit, welche ermöglichen würde, die unbequeme jedesmalige Feststellung der verimpften Flüssigkeitsmengen durch Wägung zu umgehen, verbessert werden; denn die versprühte Flüssigkeitsmenge würde dann bei gleichbleibendem Gasdruck, gleichbleibender Höhe der Flüssigkeitsschicht und gleichbleibender Entfernung der Petrischale vom Flüssigkeitsspiegel möglicherweise stets in der Zeiteinheit die gleiche bleiben.

Berlin, im Juni 1909.

Über experimentelle Kaninchensyphilis mit besonderer Berücksichtigung der Impfsyphilis des Hodens.

Von

Professor **Dr. Uhlenhuth,** Geheimem Regierungsrat und Direktor und **Dr. P. Mulzer,** wissenschaftl. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

(Hierzu Tafel IV u. V.)

Versuche, die Syphilis auf Kaninchen zu übertragen, sind schon vielfach angestellt worden. In die Zeit vor der Entdeckung der Spirochaete pallida durch Schaudinn und Hoffmann gehört die bereits 1881 von P. Haensell gemachte Mitteilung, daß es ihm gelungen sei, in sieben Fällen durch Verimpfung menschlichen syphilitischen Virus in die vordere Augenkammer von Kaninchen eigentümliche Erkrankungen der Hornhaut und der Regenbogenhaut zu erzeugen, die eine erfolgreiche Übertragung der Syphilis vermuten ließen. Siegel will 1905 nach kutaner und intraokularer Impfung bei einigen Kaninchen Sekundärerscheinungen auf der Haut, das Auftreten von schuppenden Papeln und einmal auch tiefere große Geschwüre beobachtet haben. Genauere Protokolle gibt Siegel nicht. Der regelmäßige Befund von „Cytorrhyctes"formen in diesen Krankheitsprodukten sowie im Blute dieser Tiere sicherte ihm den Beweis, daß hier Impfsyphilis des Kaninchens vorliege. Auf Grund des Nachweises verschiedener Formen seines „Syphilisbazillus" glaubte auch v. Niessen eine Übertragung der menschlichen Syphilis auf das Kaninchen erzielt zu haben.

Den einwandfreien Beweis für die Empfänglichkeit des Kaninchens für die Syphilis hat in exakter Weise erst E. Bertarelli erbracht, der seine spezifischen Befunde an der Kaninchenhornhaut durch den Nachweis der Spirochaete pallida im erkrankten Gewebe, durch die Reihenübertragung auf das Kaninchen und durch die Infektion von Affen durch das Kaninchenvirus sichergestellt hat.

Die Beobachtungen Bertarellis konnten in der Folgezeit zahlreiche Forscher bestätigen (Scherber, Greeff und Clausen, Kraus und Volk, A. Neißer, Schucht, Mühlens, E. Hoffmann und Brüning, Uhlenhuth und Weidanz, Tomasczewski u. a.).

Umberto Parodi versuchte dann weiterhin Kaninchen durch Einbringen vom Menschen entnommenen syphilitischen Materials in den Hoden zu infizieren. Daß

im Hodenparenchym die Spirochaete pallida gedeihen und syphilisähnliche Gewebserkrankungen hervorrufen kann, beweist folgender von ihm mitgeteilter Fall:

Einem Kaninchen wurde am 11. Mai 1907 ein Stückchen einer syphilitischen Papel unter die Tunica vaginalis eines Hodens geschoben, nachdem vorher die Tunica albuginea eingeschnitten worden war. Etwa vier Wochen später wurde das Tier getötet. Die Tunica zeigte an der Impfstelle eine fünfpfennigstückgroße hyperämische Fläche. Auf dem Durchschnitt erwies sich das Hodenparenchym an dieser Stelle derb und infiltriert. Histologisch bestand diese, der Form nach keilförmig, aus einer kleinzelligen Infiltration, die hauptsächlich lymphoide Elemente enthielt und sowohl um die Gefäße der Tunica vasculosa unter der Albuginea, wie um die zwischen den Tubuli befindlichen Gefäße lokalisiert war. Einige Gefäße zeigten Wucherungen der Adventitiazellen. Die Hodenkanälchen waren in der genannten Zone auch verändert.

Nach Versilberung (Methode Volpino-Levaditi) fanden sich sowohl in diesem Granulationsgewebe wie im Innern der veränderten Tubuli seminiferi typische Spirochaeten in wechselnder Anzahl.

Parodi nimmt nach diesem Befunde an, daß er experimentell ein echtes Syphilom im Hoden des Kaninchens erzeugt habe. Während diese Impfung bei Parodi nur einen örtlichen Befund ergab, konnte A. Neißer auf diese Weise keine lokale Haftung, wohl aber eine Generalisierung des Virus beobachten. A. Neißer spaltete die Hoden von 5 Affen und 7 Kaninchen und impfte in diese Organe menschliches oder tierisches (Milzknochenmarkbrei syphilitischer Affen) Syphilisvirus. Mit dem Milzknochenmarkbrei einiger solcher Tiere gelang es ihm, bei drei Affen typische Primäraffekte zu erzeugen. Lokale Veränderungen an den geimpften Hoden hat A. Neißer nicht beobachtet, ebensowenig wie äußere sichtbare Krankheitserscheinungen der Lues. Neißer sagt deshalb auch: „Eine sehr große Bedeutung für unsere menschlichen Syphilisstudien hat die berichtete Tatsache wohl nicht, da wir eben bei den am Hoden infizierten Kaninchen keine typischen, der äußeren Untersuchung zugänglichen Erscheinungen finden, weder am Hoden, noch sonst am Körper, die uns darüber Aufschluß geben, ob überhaupt die am Hoden versuchte Infektion angegangen ist."

E. Hoffmann, Loehe und Mulzer haben dann die Versuche von Parodi und Neißer aufgenommen und Kaninchen mit spirochaetenhaltigem Saugserum vom Menschen in die Hoden geimpft. In einem Falle gelang es, eine Erosion an der Impfstelle zu erzeugen, die den Charakter eines menschlichen Primäraffektes sowohl hinsichtlich des histologischen Baues als auch des positiven Spirochaetenbefundes aufwies. Die Inkubationszeit betrug 34 Tage. Im Hodengewebe selbst fanden sich nirgends Spirochaeten, weder im Ausstrich noch im Gewebe (nach Levaditi Silberfärbung).

Truffi gelang in ähnlicher Weise die Übertragung eines menschlichen syphilitischen Primäraffektes auf die Haut eines Kaninchens. Bei einem Kaninchen, dem er etwa 0,1 ccm spirochaetenhaltiges Saugserum in den rechten Hoden eingespritzt hatte, erhielt er nach etwa 9 Wochen ein Geschwür an der Einstichstelle, das im Durchmesser 1 cm betrug und mit einer Kruste bedeckt war. Nach Entfernung der Kruste erschien ein ungleichmäßig gestalteter mißfarbener Grund, der von steilen, nach außen in eine harte, rotblau gefärbte Infiltrationszone übergehenden Rändern umgeben war. Keine palpierbaren Leistendrüsen. Der Hoden war im Skrotum frei beweglich und nicht vergrößert. Im Saugserum zahlreiche Spirochaetae pallidae. Die

histologische Untersuchung ergab ein kompaktes Infiltrat, das zum größten Teil aus Plasmazellen, zum kleinsten Teil aus Lymphocyten und Fibroblasten bestand. Die Gefäße waren nicht sehr stark verändert. Spirochaeten (Levaditifärbung) waren äußerst zahlreich vorhanden, vorzugsweise die perivaskularen Zonen der mittleren Dermaschichten einnehmend.

Der Primäraffekt heilte nach 24 Tagen von selbst. Mit Material, durch Inzision der Narbe, die noch zahlreiche lebende Spirochaeten enthielt, gewonnen, gelang es Truffi weiter, zwei neue Kaninchen an der Hornhaut und an der Hodensackhaut mit positivem Erfolg zu infizieren. Allgemeinerscheinungen von Syphilis hat Truffi anscheinend nicht beobachtet.

Wie Truffi in seiner Veröffentlichung anführt, hatte bereits Ossola in der Sitzung der medizinischen Gesellschaft zu Pavia am 5. Juni 1908 ein Kaninchen vorgezeigt, das auf dem Skrotum einen durch Inokulation eines Stückchens einer syphilitischen Kaninchenhornhaut hervorgerufenen typischen Primäraffekt mit entsprechender Leistendrüsenschwellung aufwies.

Auf dem X. Kongreß der deutschen dermatologischen Gesellschaft zu Frankfurt a. M. vom 8. bis 10. Juni 1908 berichtete Grouven über klinisch erkennbare Allgemeinsyphilis beim Kaninchen. Grouven beobachtete ein am 1. Dezember 1906 intraokulär syphilitisch infiziertes Kaninchen bis zu dem am 24. April 1908 unter Marasmus erfolgten Tode. Nach einer hochgradigen örtlichen Augenerkrankung folgten 8 Monate später Allgemeinerscheinungen: Haarausfall, Abmagerung, Dyspnoe und Rhagaden an der Nase mit spärlichem Spirochaetenbefund. Nach 11 Monaten Keratitis parenchymatosa des intakten Auges, Mitte Februar 1908 verstärkter Haarausfall, geschwürige Papeln des Präputiums mit massenhaftem Spirochaetenbefund. Im weiteren Verlaufe traten dann noch Papeln, Infiltrate und Erosionen am After und an den Nasenflügeln auf, dann ein ausgedehntes makulopapulöses Exanthem des Rückens, stellenweise geschwürig mit Rupiaborken, und Augenbindehaut-Entzündung. In allen Effloreszenzen zahlreiche Spirochaeten. Bei der Sektion fanden sich massenhaft Spirochaeten im rechten und auch im linken makroskopisch scheinbar völlig intakten Hoden und Nebenhoden, in den Beckenlymphdrüsen, der Nasenschleimhaut und der Hornhaut.

Levaditi und Yamanouchi gelang es mittels kleiner Stücke einer syphilitischen Kaninchenkornea, welche in subepidermoidale Taschen eingeschoben wurde, an der Schleimhaut des Präputiums eines Kaninchens eine positive Impfung zu erzielen. Spirochaeten (Levaditi) fanden sich längs der Gefäßwandungen und in den oberflächlichsten Epidermisschichten. Auf der äußeren Haut des Kaninchens ließ sich eine Haftung nicht erzielen.

In der Berliner militärärztlichen Gesellschaft, Sitzung vom 21. Mai 1909 demonstrierten Uhlenhuth und Mulzer Präparate und Zeichnungen von dem Hoden eines Kaninchens, in dem sich nach Impfung mit menschlichem Syphilisvirus (spirochaetenhaltiges Saugserum eines unbehandelten frischen Primäraffektes) massenhaft typische Lues-Spirochaeten fanden und eine eigenartige Umwandlung des Hodenparenchyms in ein schleimig-myxomatöses Gewebe nachzuweisen war (siehe unten 1. Fall).

In der Berliner dermatologischen Gesellschaft zeigte am 9. Juni 1909 Tomasczewski ein Kaninchen vor, das 14 Tage nach erfolgter Hodenimpfung mit luetischem, reichlich spirochaetenhaltigem menschlichem Saugserum an der Peniswurzel eine etwa pfennigstückgroße Erosion aufwies, in der sich reichlich Lues-Spirochaeten fanden. Wahrscheinlich handelt es sich hier, wie Tomasczewski annimmt, um eine Kontaktinfektion von der am Hoden befindlichen Impfstelle aus.

Menzincescu endlich teilt einen Fall mit von gelungener beiderseitiger Hodenimpfung bei einem Kaninchen. An beiden Einstichstellen traten nach einer Inkubationszeit von 35 Tagen Infiltrate auf, die später geschwürig zerfielen und makroskopisch wie mikroskopisch einem menschlichen Primäraffekt glichen. Außerdem fanden sich in den nur wenig vergrößerten Hoden massenhaft Spirochaeten und typische syphilitische Umwandlungen, wie Gummiknötchen mit zentraler Verkäsung.

Nach diesen in der Literatur niedergelegten Erfahrungen scheint es, als ob das Kaninchen für Syphilis empfänglicher ist, als man bisher annahm. Und doch wurden die positiven Ergebnisse, die Haftung des Virus an der Impfstelle, noch mehr aber die Allgemeininfektion als mehr oder weniger zufällige und äußerst seltene Ereignisse angesehen.

Es sei uns nun gestattet, über unsere experimentellen Untersuchungen über die Kaninchensyphilis zu berichten.

Unsere bisherige experimentelle Arbeit beschäftigte sich zunächst mit dem Studium der Hornhautsyphilis beim Kaninchen.

Über diese ist bereits mehrfach im Zusammenhang mit unsern therapeutischen Versuchen mit Atoxyl berichtet worden (siehe die Arbeiten von Uhlenhuth, Hoffmann und Weidanz). Hier sei noch mitgeteilt, daß es uns gelungen ist, bei der Übertragung luetischen Virus (Bertarelli, Hoffmann) von Kaninchenauge zu Kaninchenauge bereits die 24. Passage zu erhalten. Das Virus scheint sich in weiteren Generationen zu verstärken, da nach unseren Beobachtungen die Intensität der Krankheitserscheinungen zunimmt („Keratitis profunda") und die Inkubationszeit sich verkürzt (von 6—7 Wochen auf 5—6 und 3—4 Wochen). Spirochaeten finden sich sowohl im oberflächlichen Geschabe der Hornhaut, als besonders in dem von der Hinterwand der erkrankten Stelle der Kornea entnommenen Material. Sehr häufig — besonders bei starker, diffuser Trübung der Kornea — finden sich auch im Kammerwasser zahlreiche, typisch gewundene Spirochaetae pallidae.

Weiterhin versuchten wir, eine Generalisierung des syphilitischen Virus durch Verimpfung luetischen Materials in die Blutbahn und in die Bauchhöhle von Kaninchen zu erreichen.

Wir experimentierten zuerst mit älteren Kaninchen. Teils verwendeten wir zu diesen Versuchen menschliches syphilitisches Virus, teils tierisches, das aus luetischer Kaninchencornea oder aus spirochaetenhaltigen Hoden stammte. Als menschliches Impfmaterial benützten wir fast ausschließlich spirochaetenhaltiges Saugserum aus möglichst frischen, noch unbehandelten Primäraffekten von Kranken, die uns in dankenswerter Weise von Herrn Geheimen Medizinalrat Lesser und Herrn Professor Blaschko zur Verfügung gestellt wurden. Die Entnahme des Virus geschah anfäng-

lich mit einem gewöhnlichen Klappschen Sauger. Das meist nur spärlich gewonnene Serum wurde in diesen Fällen noch mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Später wurde mittels eines von Schuberg und Mulzer modifizierten Saugapparates gearbeitet, der uns ausgezeichnete Dienste leistete. Das dann in reichlicherer Menge zur Verfügung stehende reine fast wasserhelle Saugserum wurde hier mittels einer sterilen Kapillare aus dem Sammelröhrchen aufgezogen und direkt, an Ort und Stelle, verimpft. Anfangs verwendeten wir einigemale exzidiertes Material, das erst einige Stunden nach der Entnahme verwertet wurde.

Wir lassen unsere Protokolle folgen:

Am 20. 11. 08 injizierten wir einem mittelgroßen Kaninchen 0,3 ccm stark spirochaetenhaltiges Saugserum (Primäraffekt) und am 25. XI. 08 einem anderen ebenso großen Kaninchen etwa 0,2 ccm spirochaetenhaltiges Saugserum aus einer frischen nässenden Analpapel jedesmal mit etwa 0,8 ccm physiologischer Kochsalzlösung in die linke Ohrvene.

Im Blute ließen sich niemals Spirochaeten nachweisen, und auch sonst traten keine luesverdächtigen Krankheitserscheinungen auf. Die Tiere gingen nach zwei Monaten an akutem Darmkatarrh zugrunde.

In den inneren Organen fanden sich (nach Levaditi) keine Spirochaeten.

Am 7. 11. 08 erhielten ein 14 Tage und ein drei Wochen altes Kaninchen je 0,2 ccm Saugserum (ulcus durum) + 0,4 ccm physiolog. Kochsalzlösung intravenös injiziert.

Das Blut war acht Tage lang jeden Tag im Dunkelfeld untersucht worden, ohne daß sich jemals Spirochaeten fanden. Auch in der Folgezeit mehrmals untersucht, ließen sich keine im kreisenden Blut auffinden.

Das eine jüngere Tier starb am 16. 12., das andere drei Wochen später. Bei der Sektion zeigten sich keine luesverdächtigen Erkrankungen. In Leber, Milz und Nieren wurden keine Spirochaeten (Levaditi) gefunden.

Diese Versuche, die in derselben Weise an zahlreichen Kaninchen ausgeführt wurden, führten zu keinem Ergebnis. Wir benutzten nunmehr für unsere weiteren Versuche ganz junge zum Teil noch saugende Kaninchen. Wir wissen, daß z. B. die Trypanosomen der Dourine bei ganz jungen Kaninchen eine allgemeine Blutinfektion — das Blut ist mit Trypanosomen überschwemmt — hervorrufen, während bei ausgewachsenen Tieren eine chronische Gewebsinfektion (Geschwüre, Haarausfall usw.) entsteht. Bei der menschlichen Lues finden wir ähnliches; gerade junge neugeborene allgemein syphilitische Kinder zeigen häufiger Spirochaetenbefund im Blut als erwachsene Syphiliskranke. Wir benutzten daher für unsere weiteren Versuche nur ganz junge Tiere.

Am 20. 1. 09 erhielten zwei kleine vier Wochen alte Kaninchen je 0,1 ccm spirochaetenhaltiges Saugserum (Primäraffekt) intraperitoneal injiziert.

Das eine Tier starb am anderen Tage, in der Bauchhöhlenflüssigkeit waren keine Spirochaeten nachzuweisen, desgleichen nicht bei dem anderen Kaninchen, trotz zahlreicher Untersuchungen der durch Punktion gewonnenen Flüssigkeit. Auch im Blut fanden sich nie Spirochaeten.

Tier am 15. 2. 09 an Seuche eingegangen. Die Sektion ergab keinerlei luetischen oder luesverdächtigen Befund. In den inneren Organen fanden sich (nach Levaditi) keine Spirochaeten.

Am 25. 1. 09 erhielten zwei junge, zwei Tage alte Kaninchen je 0,2 ccm spirochaetenhaltiges Saugserum (Genitalpapel) und 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung in die Bauchhöhle injiziert.

Am andern Tag ließen sich bei keinem der Tiere Spirochaeten in der Bauchhöhlenflüssigkeit nachweisen, ebensowenig im Blut. Am nächsten Tage starb das eine Tier, am übernächsten das andere. Bei keinem konnten Spirochaeten nachgewiesen werden.

Am 29. 1. 09 bekam ein junges, vier Wochen altes Kaninchen 0,2 ccm spirochaetenhaltiges Saugserum (Primäraffekt) und 0,8 ccm physiologische Kochsalzlösung in die Bauchhöhle injiziert.

Das Tier wurde bis zum 15. 2. beobachtet, ohne daß irgend welche syphilisverdächtigen Symptome beobachtet oder Spirochaeten im Blut oder in der Bauchhöhlenflüssigkeit gefunden worden wären.

Am 24. 3. wurde ein mittelgroßes Kaninchen mit 0,2 ccm spirochaetenhaltigem Saugserum (Primäraffekt) in die Bauchhöhle geimpft.

Beobachtet bis 5. 6. ohne irgend welche syphilisverdächtige Erscheinungen. Niemals im Blut oder in der Bauchflüssigkeit Spirochaeten. Tier getötet.

Organe nach Levaditi gefärbt, ergaben keine positiven Spirochaetenbefunde (Leber, Milz, Nieren). Es ließen sich nirgends Spirochaeten nachweisen.

Am 27. 10. 08 wurde einem mittelgroßen Kaninchen das typisch luetisch erkrankte rechte Auge[1]) entfernt und in die Bauchhöhle per laparotomiam implantiert.

Während der nächsten Tage wurde täglich das Blut untersucht, ohne daß Spirochaeten in ihm gefunden worden wären.

Am 7. 11. wurde das Tier wieder laparatomiert. Das Auge wurde nicht gefunden, wahrscheinlich war es schon resorbiert. Im Blut und in der Bauchhöhlenflüssigkeit fanden sich keine Spirochäeten.

Am 1. 12. 09 erhielt dieses Tier wieder ein stark syphilitisches Auge in die Bauchhöhle verpflanzt. Auch hier fanden sich in der Folgezeit weder Spirochaeten im Blut noch in der Peritonealflüssigkeit. Auch zeigte das Serum keine spezifischen Spirochaeten-Antikörper.

Am 15. 11. wurde einem drei Wochen alten Kaninchen das stark syphilitische rechte Auge eines Kaninchens in die Bauchhöhle per laparotomiam verpflanzt.

Niemals wurden in der Folgezeit Spirochaeten im Blute oder der Bauchhöhlenflüssigkeit gefunden. Auch sonst zeigte das Tier keinerlei luesverdächtige Erscheinungen. Es starb am 2. 2. 09 an Seuche.

Am 23. 11. 08 erhielt ein etwa 14 Tage altes Kaninchen etwa 0,5 ccm breiiges Quetschmaterial von einem frisch exzidierten Primäraffekt mit 0,5 ccm Ascitesflüssigkeit — um das Tier eventl. für menschliches Virus empfänglicher zu machen — in die Ohrvene eingespritzt.

Im Blut niemals Spirochaeten; keinerlei krankhafte, luesverdächtige Symptome. Am 15. 2. 09 wegen Seuche getötet.

Am 24. 4. 09 erhielten fünf junge, drei Tage alte Kaninchen etwa 0,6 ccm einer Emulsion von stark spirochaetenhaltigem Kaninchenhodenmaterial und physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal eingespritzt.

Am 25. 4., 26. 4., 27. 4. und 30. 4. fanden sich bei keinem der Tiere weder im Blut noch in der Peritonealhöhle Spirochaeten. Zwei Tiere starben am nächsten Tage. Ein Tier wurde acht Tage später getötet: im Blut und in der Bauchhöhle keine Spirochaeten, Milz, Leber, Lunge und Niere eingelegt und nach Levaditi imprägniert: Befund: In keinem der untersuchten Organe fanden sich Spirochaeten.

Die anderen Tiere wurden nach weiteren acht Tagen getötet mit demselben negativen Befund.

Auch frühere von Uhlenhuth und Weidanz vorgenommene Versuche, junge Kaninchen mit spirochaetenhaltigem Korneamaterial von Kaninchen intravenös zu infizieren, schlugen fehl.

Weiterhin versuchten wir eine Haftung des menschlichen syphilitischen Virus und eine Generalisierung der Syphilis am Kaninchen durch kutane Impfung und durch Implantierung des Impfstoffes in drüsige Organe von Kaninchen zu erzielen. Einen derartigen Vorschlag, die Syphilis auf einem anderen Wege, als auf dem der subkutanen Implantierung auf Tiere zu übertragen, machten übrigens schon

---

[1]) Auch zum Zwecke der Kultur der Spirochaete pallida wurden ganze syphilitische Augen nach Art der Collodiumsackmethode in der Bauchhöhle von Kaninchen bebrütet. Eine Anreicherung der Spirochaeten wurde nicht erzielt.

Brieger und Uhlenhuth, indem sie rieten, das Syphilisvirus auf innere Organe zu überpflanzen.

Wir impften zwei Kaninchen mit negativem Ergebnis in das Praeputium und ein Weibchen in die kleinen Schamlippen (Injektion von spirochaetenhaltigem Saugserum aus Primäraffekten).

Drei Kaninchen wurden an der Bauchhaut geimpft, das eine durch längeres Einreiben von Saugserum in eine rasierte, leicht skarifizierte und dann vor der Impfung 2—3 Minuten „gesaugte" Stelle, die beiden anderen durch subkutane Injektion von etwa 0,2 ccm Saugserum (aus Primäreffekt).

Bei einem Tier wurden in die Eierstöcke, die durch Laparotomie freigelegt worden waren, mehrere Stückchen einer syphilitischen Kaninchenkornea eingepflanzt. Das Tier starb nach ungefähr vier Wochen an der Seuche und kam leider nicht zur Sektion.

Zwei Weibchen erhielten in mehrere Milchdrüsen das eine spirochaetenhaltiges Saugserum, das andere Quetschmaterial aus dem syphilitischen Hoden des unten angeführten Kaninchens eingeführt. Letzteres Tier starb nach einigen Tagen an Seuche ohne jeden verdächtigen Befund, das erstere zeigt bis jetzt noch keine krankhaften Erscheinungen.

Eine große Anzahl von Kaninchen impften wir mit menschlichem Virus (spirochaetenhaltigem Saugserum) in die Hoden. Während alle oben geschilderten Impfversuche mit Ausnahme der intraokulären Impfung ein negatives Resultat hatten, haben sich bei diesen Impfungen positive Befunde ergeben.

In Kürze wurde darüber referiert — mit Demonstration von Präparaten — von Uhlenhuth in der bereits oben erwähnten Sitzung der militärärztlichen Gesellschaft vom 21. Mai 1909 und auf dem Mikrobiologenkongreß in Wien, Pfingsten 1909, sowie von Mulzer in der Berliner dermatolog. Gesellschaft (Sitzung vom 17. Juni 1909.)

1. Fall. Am 10. Februar 1909 spritzten wir einem mittelgroßen weißen Kaninchenbock (Albino) in den rechten Hoden etwa 0,2 ccm Saugserum, das zahlreiche lebende Spirochaeten (pallidae) enthielt. Die Impfung wurde sofort nach Entnahme des Serums mittels einer sterilen Kapillare vorgenommen. Das Impfmaterial gewannen wir durch längeres Saugen mit einem sog. Klappschen Sauger aus einem frischen, etwa 8 Tage alten, unbehandelten Primäraffekt am inneren Praeputialblatt.

Die anfänglichen Reizerscheinungen, die sich in entzündlicher Schwellung des geimpften Hodens und in offenbar großer Druckempfindlichkeit äußerten, bildeten sich in den nächsten Tagen zurück und schon am 25. Februar war ein Unterschied zwischen beiden Hoden nicht mehr wahrzunehmen.

Dieser Zustand blieb längere Zeit unverändert.

Am 2. April 1909, also 51 Tage nach der Impfung, erschien der rechte, geimpfte Hoden etwas größer als der linke und fühlte sich auch etwas derber an. Er ließ sich jedoch leicht durch den Leistenring bringen und schien nicht druckempfindlich zu sein.

Am 16. April 1909 war der rechte Hoden ungefähr doppelt so groß wie der linke, prall elastisch gespannt und nicht mehr durch den Leistenring zurückschiebbar.

Am 23. April 1909, also 71 Tage nach der Impfung, bot sich folgender Befund: Hoden und Schwanz des Nebenhodens palpatorisch nicht zu isolieren, bilden rechts einen taubeneigroßen Tumor von prallelastischer Konsistenz und leicht unregelmäßiger Oberfläche. Der Kopf des Nebenhodens liegt dem unteren Pol dieses Tumors an und ist etwa um die Hälfte größer als links. In der Tiefe dieses Tumors ventralwärts ist eine schmale Zone derberen Gewebes fühlbar. Die Haut über dem Tumor ist nicht gerötet und gleicht der Skrotalhaut des linken Hodens. Sie ist nicht mit der Unterlage verwachsen (Figur 1).

Der Samenstrang erscheint etwas verdickt.

Druckempfindlichkeit des Hodens besteht scheinbar nicht.

Das Allgemeinbefinden des Tieres war ungestört.

Durch Punktion mit einer Kapillare gewinnt man eine fast wasserhelle fadenziehende Flüssigkeit, in der sich bei Dunkelfeldbeleuchtung sehr zahlreiche lebhaft bewegliche typische Spirochaete pallidae nachweisen ließen.

Am nächsten Tage wurde das Tier rechtsseitig kastriert.

Beim Einschneiden in den Hoden quoll eine glasig-grauweiße, traubenartig gefelderte Masse über die Schnittfläche. Flüssigkeit war nirgends vorhanden. Auf dem Durchschnitt zeigte sich, daß dieses gallertartige Gewebe über $^{2}/_{3}$ des Tumors einnahm und daß nur hinten ventralwärts ein etwa $^{1}/_{2}$ cm breiter Saum anscheinend normalen Hodengewebes noch vorhanden war. Der Kopf des Nebenhodens war auf dem Durchschnitt zwar vergrößert, aber nicht irgendwie verändert. Die Leistendrüsen waren nicht zu palpieren, also wohl auch nicht verändert. Das Allgemeinbefinden des Tieres war gut.

Durch Abstriche von der Schnittfläche wurden frische und auch gefärbte Präparate hergestellt. Sowohl im Hoden, besonders in der gallertartigen Masse, wie im Kopf des Nebenhodens wurden zahlreiche lebende Syphilisspirochaeten nachgewiesen.

Im Dunkelfeld zeigten sie lebhafte, typische Bewegung, mit Giemsafärbung — auf 10 ccm aq. dest. 15 Tropfen Giemsa III, 12—24 Stunden gefärbt — wiesen sie eine blasse rötlich blaue Tinktion auf. Sie waren zum Teil ziemlich lang — bis zu 16 Windungen — meist gerade gestreckt und liefen an den Enden spitz zu.

Im strömenden Blut (Ohrvene) wurden weder im Dunkelfeld noch im Giemsapräparat Spirochaeten gefunden.

Der histologische Befund war folgender (Figur 2):

Schon bei schwacher Vergrößerung lassen sich auf Längs- und Querschnitten des Hodens (Haematoxylin-Eosin-Färbung) zwei Zonen unterscheiden, eine breitere schwach blau gefärbte und eine schmälere stark dunkelblau tingierte. Histologisch erscheint der größte Teil des Hodens in ein Gewebe umgewandelt, das aus Spindelzellen mit langen Ausläufern besteht, die miteinander anastomisieren und eine ödematöse Interzellularsubstanz einschließen. Dieses Gewebe entspricht nach dem ganzen Bau einem myxomatösen Bindegewebe. Am Rande der hinteren Fläche des Hodens — analwärts in vivo — findet sich ein schmaler Saum von noch gut erhaltenem Hodengewebe, dessen Gerüst aber doch verbreitert und kleinzellig infiltriert ist.

Die Epithelzellen der Tubuli sind teilweise abgestoßen und liegen im Lumen der Hodenkanälchen. In beiden Zonen finden sich vereinzelt kleinzellige Infiltrate, die aus mononukleären Leukozyten mit stellenweise zentraler Nekrose bestehen. Riesen- und Plasmazellen haben wir nicht gesehen. Die Gefäßwände sind ebenfalls stellenweise von kleinzelligen entzündlichen Infiltraten umgeben.

Spirochaeten finden sich (nach Levaditi behandelt) vor allem in dem zellarmen myxomatösen Gewebe (Figur 3). Hier liegen sie massenhaft, regellos zerstreut. Dann aber ist fast sämtliches interstitielle Bindegewebe — und vielfach auch die Gefäßwände — durchsetzt von Spirochaeten. Nur spärlich finden sie sich dagegen in dem wenig veränderten fast normalen Hodengewebe, und zwar besonders in den kleinzelligen Infiltraten.

Der Nebenhoden ist sehr wenig verändert, das Epithel der Tubuli ist überall unverändert, nur sind auch hier die Interstitien durch kleinzellige Infiltration etwas verbreitert. Unter der Kapsel sieht man vereinzelte Anhäufungen mononukleärer Leukozyten mit zentraler Nekrose. Spirochaeten finden sich nach Levaditi, besonders im Bindegewebe, im allgemeinen aber in viel geringerer Anzahl wie im Hodengewebe und regellos gelagert.

In der Peripherie des Samenstranges finden sich ebenfalls vereinzelte entzündliche Herde aber keine Spirochaeten. Im allgemeinen liegt also hier eine interstitielle Orchitis vor.

Mit Material von diesem Hoden impften wir:

1. Vier große männliche Kaninchen in beide Hoden, in der Weise, daß wir Stückchen mittels einer Kanüle in die Hodensubstanz einschoben. Sämtliche Tiere gingen in den nächsten vier Wochen zugrunde, ohne daß sich eine Todesursache hätte ermitteln lassen. Im Blut und in Abstrichen von Hodendurchschnitten fanden sich keine Spirochaeten. Die Hoden wurden nach Levaditi gefärbt; in keinem Falle fanden sich Spirochaeten.

2. Zwei Kaninchen intraokular in der üblichen Weise. Bei beiden Tieren trat nach etwa 3—4 Wochen eine typische Perikornealinfektion und ferner Gefäßneubildung an der Impfstelle auf. Es handelte sich zweifellos um eine luetische Impfkeratitis. Die Tiere starben leider an der Kaninchenseuche.

3. Eine männliche Ratte in beide Hoden und eine weibliche in die Schamlippen (subkutan).

4. Ein Meerschweinchen in beide Hoden und eines intraperitoneal.

5. Fünf junge Kaninchen (drei Tage alt) intraperitoneal (vgl. S. 187).

6. Ein junges Schwein in den linken Hoden.

7. Einen Affen in den linken Hoden.

8. Einen Affen an beiden Augenbrauen und in die Brustdrüsen.

Bei sämtlichen Tieren hatten wir kein positives Impfergebnis, mit Ausnahme der typischen luetischen Keratitis bei den beiden Kaninchen. Durch die Möglichkeit mit diesem Hodenmaterial eine typische luetische Keratitis zu erzeugen, ist die syphilitische Natur dieser Hodenerkrankung gesichert.

Das Serum des hodenkranken syphilitischen Kaninchens zeigte weder Agglutinatine noch Lysine bei Vermischung mit dem spirochaetenhaltigen Hodenmaterial.

Durch Antiformin (5 %ige Lösung) wurden bei mikroskopischer Betrachtung die Spirochaeten sofort aufgelöst, durch Einwirkung von Arsenophenylglycin und Sublimat (1 : 1000) werden sie erst nach längerer Zeit (1/4 Stunde) unbeweglich.

Mit dem Rest des Hodenmaterials haben wir in Gemeinschaft mit Haendel Kulturversuche, über die wir später ausführlich berichten werden, angestellt. Hier sei nur in Kürze mitgeteilt, daß es uns gelang, in mit Hodenstückchen beschickten Bouillonröhrchen, die bei 37 ° gehalten wurden, nach drei Wochen zahlreiche bewegliche, d. h. lebende Spirochaeten und zwar längere und kürzere Formen zu finden. Ob eine Vermehrung stattgefunden hatte, war nicht sicher zu entscheiden. Die Kultur entsprach den von Tarozzi für die Anaërobier angegebenen Vorschriften.

Die aëroben Kulturen auf Kaninchenblutagar und die zahlreichen anaëroben Kulturen nach Mühlens und Schereschewski (Serumagar resp. Pferdeserum) zeigten kein Wachstum.

In der Folgezeit stellten wir keine luesverdächtigen Krankheitserscheinungen bei dem hodenkranken Kaninchen fest.

Die mit dem spirochaetenhaltigen Hodenmaterial bei diesem Kaninchen vorgenommene Augenimpfung hatte ein negatives Ergebnis. Nach einer kurzdauernden entzündlichen Reizung blieb dieses Auge vollkommen klar.

Auch eine zweite Impfung in dasselbe Auge mit einem Stückchen einer luetischen Kaninchenkornea (XXII. Passage) blieb erfolglos.

Im kreisenden Blut waren niemals Spirochaeten nachweisbar. Am 3. und 15. Juli fiel die zum erstenmal an diesem Tiere vorgenommene Wassermannsche Reaktion stark positiv aus. Gleichzeitige Kontrolluntersuchungen an sechs normalen und zehn vor fünf Tagen mit tierischem Virus (Kaninchenkornea XXII. Passage) intraokular geimpften Tieren ergaben eine negative Wassermannsche Reaktion.

2. Fall: Ein mittelgroßes, braunes Kaninchen wurde am 15. Februar 1909 wie vorher mit stark spirochaetenhaltigem Saugserum eines frischen, unbehandelten Primäraffektes in den rechten Hoden geimpft.

Der Hoden zeigte in der Folgezeit keinerlei pathologische Veränderungen. Am 5. Juni 1909 erschien dieser Hoden etwas größer als der linke; bot aber sonst keinen abweichenden Befund. Vier Tage später war er weit über die Hälfte vergrößert, dunkelblaurot verfärbt und sugilliert, wahrscheinlich infolge einer Quetschung. Die Punktion ergab eine braunrote Flüssigkeit, die keine Spirochaeten enthielt.

Auch histologisch, nach Levaditi gefärbt, fanden sich im Hodengewebe keine Spirochaeten. Diese Impfung hatte also keinen Erfolg gehabt.

3. u. 4. Fall: Zwei mittelgroße graue Kaninchen wurden am 1. Mai 1909, das eine mit Stückchen einer syphilitischen Kaninchenhornhaut, das andere mit 0,1 ccm des spirochaetenhaltigen Kammerwassers dieses Auges in den linken Hoden geimpft. Bisher konnten indes weder pathologische Veränderungen am Hoden, noch sonst eine Haftung dieses tierischen Virus beobachtet werden.

5. Fall: Am 4. Mai 1909 wurde ein mittelgroßes, graues Kaninchen mit 0,2 ccm

reinem (unverdünntem), spirochaetenhaltigem Saugserum in den linken Hoden geimpft. Leider wurde das Tier, das wegen Seuche mit anderen seuchekranken Tieren zusammengebracht worden war, derartig in den linken Hoden gebissen, daß dieser brandig wurde.

In dem kleinen kugeligen Rest wurden keine Spirochaeten gefunden.

6. u. 7. Fall: Am 4. Mai 1909 wurden mit demselben Impfmaterial zwei weitere Kaninchen in den linken Hoden geimpft; jedoch wurde das Impfmaterial im Verhältnis von 1 zu 3 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Das eine Tier starb am 21. Mai 1909 an Seuche. Der geimpfte linke Hoden war histologisch völlig normal, auch waren — nach Levaditi — in ihm keine Spirochaeten nachweisbar.

Das andere Tier ergab bis heute keinen von der Norm abweichenden Befund. Die Impfung dürfte also hier nicht gelungen sein.

Am 26. Mai 1909 wurden fünf mittelgroße Kaninchen mit Saugserum einer nässenden Genitalpapel, das nur wenig Spirochaeten enthielt, in einen oder in beide Hoden geimpft.

8. Fall: Am 26. Juli, also 41 Tage nach der Impfung konnten wir bei einem dieser Kaninchen folgenden Befund erheben: der linke geimpfte Hoden war etwa um die Hälfte vergrößert. Der Nebenhoden, anscheinend nicht vergrößert, ließ sich palpatorisch in seiner ganzen Form vom Hoden leicht abgrenzen. Die Konsistenz des Hodens war leicht elastisch und täuschte das Gefühl der Fluktuation vor. Der Hoden war im Hodensack frei beweglich, mit der in Farbe und Spannung normalen Skrotalhaut nirgends verwachsen. Die Skrotalhaut selbst war völlig intakt; die Einstichstelle nicht zu sehen. Die Punktion ergab ein eigentümliches zähes, fadenziehendes, klares, spärliches Sekret, das zahlreiche außerordentlich feine, typisch gewundene Spirochaeten enthielt.

9. Fall: Bei dem zweiten, an diesem Tage geimpften Tiere war der linke Hoden leicht gequetscht worden, um einen der Infektion zugänglicheren locus minoris restistentiae zu schaffen. Beide Hoden waren geimpft worden.

Am 10. Juli, also 45 Tage nach der Impfung, erschien der nicht gequetschte rechte Hoden in ähnlicher Weise wie bei Fall 1 und 8 vergrößert. Der linke Hoden, der bald nach der Impfung zu $^2/_3$ brandig war und abgestoßen wurde, bildete nur noch einen kleinen, rundlichen, derben Knoten. In der hellen, zähen Punktionsflüssigkeit des rechten Hodens fanden sich zahlreiche typische Pallidae.

10. Fall: Bei dem dritten Tier war der gequetschte und geimpfte Hoden auch zu $^2/_3$ zugrunde gegangen, der andere nicht geimpfte Hoden war völlig normal. Die Leistendrüsen waren nicht verändert.

11. Fall: Das vierte, mit demselben Impfmaterial in den linken Hoden geimpfte Kaninchen zeigte ebenfalls nach 41 Tagen eine Anschwellung des linken, geimpften Hodens in ähnlicher Weise wie das erste Tier. Auch hier wurde punktiert und es wurden zahlreiche Spirochaeten gefunden. Die entsprechenden Leistendrüsen waren normal.

Während bei allen diesen Tieren die Skrotalhaut völlig intakt war, fanden wir bei dem zu dieser Impfreihe gehörigen fünften Tier — 12. Fall — am 15. Juli,

also 50 Tage nach der Impfung, in der Skrotalhaut des unteren Drittels eine halbpfennigstückgroße, mit einer bräunlich-roten festhaftenden Kruste bedeckte Stelle. Nach Abheben der Kruste trat ein Geschwür zutage, dessen Grund leicht eitrig belegt war. Die schwach infiltrierten Ränder fielen wie scharf geschnitten steil ab und bluteten etwas (vgl. Fig. 4). Im Quetschserum fanden sich zahlreiche außerordentlich feine Spirochaeten vom Typus der Pallida. Der Hoden selbst war anscheinend nicht verändert.

Am 27. Mai 1909 wurden wieder 4 mittelgroße Kaninchen mit spirochaetenhaltigem Saugserum einer Analpapel in einen oder beide Hoden geimpft.

12. Fall: Am 15. Juli, also 49 Tage nach der Impfung, schienen bei dem einen Tier beide geimpfte Hoden bedeutend vergrößert in der Art, wie oben beschrieben. Beide Organe waren jedoch im Hodensack noch frei beweglich. Über dem rechten Hoden fand sich nun aber auf der Skrotalhaut in ihrem unteren Drittel eine etwa kreisrunde, hellergroße Stelle, die von einer gelblichen trockenen Kruste bedeckt war.

Nach Abheben der ziemlich festsitzenden Kruste trat eine entsprechende feuchtglänzende rötliche Stelle zutage, die von flachen, nicht infiltrierten Rändern umgeben war (Fig. 5). Im Abklatschpräparat sowohl wie im Quetschserum dieser Erosion fanden sich zahlreiche typische, sehr feine Spirochaeten. Die entsprechenden Leistendrüsen waren völlig normal.

13. Fall: Bei dem zweiten, am 27. Mai 1909 mit demselben Impfmaterial in den linken Hoden geimpften Kaninchen war am 6. Juli, also 40 Tage nach der Impfung, dieser Hoden bedeutend vergrößert, prall elastisch, und nicht reponierbar. Die Skrotalhaut war völlig intakt und nirgends mit der Unterlage verwachsen. Hoden und Nebenhoden waren noch palpatorisch abzugrenzen. In dem durch Punktion gewonnenen zähen, wasserklaren Sekret fanden sich massenhaft lebhaft bewegliche Spirochaetae pallidae.

14. Fall: Auch bei dem dritten Kaninchen, das an diesem Tage mit demselben Impfmaterial in den linken Hoden geimpft wurde, zeigte sich am 15. Juli, also nach 49 Tagen, der geimpfte Hoden gegenüber dem rechten bedeutend vergrößert. Die Punktion ergab zahlreiche typische Pallidae. Die Leistendrüsen waren normal.

15. Fall: Das vierte ebenso geimpfte Kaninchen zeigte bis heute noch keine Veränderungen der Hoden.

Am 1. Juni 1909 wurden 2 Kaninchen mit nur wenig Spirochaeten enthaltendem Saugserum eines Primäraffektes in beide Hoden geimpft.

16. u. 17. Fall: Während am 15. Juli, also nach 45 Tagen, bei dem einen Tier der linke Hoden deutlich, aber noch nicht sehr stark vergrößert war, erschien an diesem Tage der linke Hoden des anderen Tieres in typischer Weise verändert. Er war bereits so groß, daß er sich nicht mehr reponieren ließ. In der Punktionsflüssigkeit fanden sich zahlreiche außerordentlich feine, typisch gewundene Pallidae. Die Leistendrüsen waren nicht verändert.

Aus unseren Beobachtungen geht hervor, daß es keineswegs selten gelingt, eine Haftung des menschlichen Syphilisvirus bezw. der Spirochaetae pallida beim Kaninchen nach Impfungen in die Hoden zu erzielen. Von 17 in

die Hoden geimpften Kaninchen konnten wir bei 10 Tieren Krankheitserscheinungen wahrnehmen, die wir als syphilitisch ansehen müssen.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen und nach den in der Literatur niedergelegten Beobachtungen tritt die Hoden-Impfsyphilis in zwei Krankheitsformen in Erscheinung:

1. in Form einer chronischen Hodenentzündung bei intakter Skrotalhaut,
2. in Form eines Geschwürs oder einer Erosion an der Einstichstelle[1]).

Was zunächst die Hodenerkrankung betrifft, so ist ihr klinisches Bild ganz typisch. Nach einer Inkubationszeit von (35—) 40—51 Tagen, während welcher Zeit nach Abklingen der primären, durch die Impfung hervorgerufenen Reizerscheinungen der Hoden vollkommen normal erscheint, vergrößert sich langsam der geimpfte Hoden. Hoden und Nebenhoden, anfangs palpatorisch gut abzugrenzen, sind es später nicht mehr; es entsteht eine etwa taubeneigroße Geschwulst, deren Oberfläche etwas unregelmäßig, aber nirgends mit der Skrotalhaut verwachsen erscheint. Die Konsistenz dieses Tumors ist prall elastisch. Der Tumor ist frei in dem intakten Hodensack beweglich, kann aber nicht mehr durch den Leistenring geschoben werden. Eine Druckempfindlichkeit besteht anscheinend nicht. Die Punktionsflüssigkeit ist nicht weißgrau und undurchsichtig wie bei normalen Hoden, sondern zähe, hell, fast klar und enthält mehr oder weniger zahlreiche Spirochaeten vom Typus der Pallida.

Histologisch finden wir das Bild einer interstitiellen Orchitis, die in ihrem Endstadium durch entzündliche kleinzellige Infiltration mit zentraler Nekrose und ein das Hodengewebe verdrängendes, eigentümliches, myxomatöses Bindegewebe charakterisiert ist.

Nebenhoden, soweit noch vorhanden, und Samenstrang des Hodens sind wohl meist auch in ähnlicher entzündlicher Weise erkrankt.

Der ganze Hoden und Nebenhoden ist durchsetzt von zahlreichen Spirochaeten.

Gleichzeitig oder auch ohne nachweisbare Miterkrankung des Hodens kann sich an der Einstichstelle eine leichte, oberflächliche Erosion bilden, die von einer festhaftenden, trockenen, gelbbraunen Kruste bedeckt ist. Es können sich aber auch derbere Infiltrate bilden, die geschwürig zerfallen. Die Ränder erscheinen dann etwas erhaben, infiltriert, aber nach Abheben der festhaftenden Kruste, scharf geschnitten. Im Preß- oder Saugserum finden sich ebenfalls typische Pallidae.

Histologisch herrscht hier ebenfalls das Bild der kleinzelligen Infiltrationen vor, das durchsetzt ist mit mehr oder weniger zahlreichen Plasmazellen und Fibroblasten.

Die benachbarten Lymphdrüsen sind anscheinend nicht oder nur selten miterkrankt.

Das Allgemeinbefinden der Tiere scheint bei diesem örtlichen Prozeß in keiner Weise gestört.

---

[1]) In letzter Zeit konnten wir noch eine dritte Form der experimentellen Hoden-Impfsyphilis beobachten: in einem Falle fanden wir nämlich den geimpften Hoden schon äußerlich an einer Stelle knollig verdickt und von harter Konsistenz. Auf dem Durchschnitt zeigte es sich, daß die Tunica vaginalis in einer Stärke von ca. 3 mm schwartig verdickt war und den atrophischen Hoden mantelförmig umgab. Im Hoden selbst wurden spärlich, in der verdickten Tunica dagegen massenhaft Spirochaeten, sowohl im Ausstrich, wie im Schnitt gefunden.

Bemerken möchten wir noch, daß unsere anfänglichen Mißerfolge mit diesen Hodenimpfungen vielleicht auf unsere ursprüngliche Impftechnik zurückzuführen ist. Wir konnten nämlich mit dem gewöhnlichen Klappschen Sauger immer nur so wenig Saugserum erhalten, daß wir es nur mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt einspritzen konnten. Später ermöglichte uns der Schuberg-Mulzersche Sauger in bequemer Weise die Entnahme von mehr Serum, so daß wir es unverdünnt zum Impfen verwenden konnten.

Nach unseren Erfahrungen ist es allerdings nicht unbedingt nötig, ausschließlich Material mit zahlreichen Spirochaeten zur Impfung zu verwenden, da wir zweimal mit nur wenig Spirochaeten enthaltendem Material positive Befunde erzielten.

Fragen wir uns nun, was wir denn mit diesen Befunden für die weitere Syphilisforschung gewonnen haben und was wir von ihnen für die Zukunft erwarten dürfen.

Die Hauptschwierigkeit der Kultivierung der Spirochaete pallida lag bisher lediglich darin, daß es nicht gelang, Material zu erhalten, das Spirochaeten ohne Beimengung anderer Mikroorganismen enthielt. Das ist nun jetzt bei diesen „geschlossenen“ Hodensyphilomen der Fall. Ist die Hodenimpfung gelungen, so haben wir massenhafte Anhäufungen lebender Spirochaeten, die uns einwandfreies Material für die Kulturen liefern können. Derartige Kulturversuche sind im Gange; ob sie erfolgreich sind (siehe die Bouillonkultur zu Fall 1), bleibt abzuwarten.

Aber selbst wenn eine Kultur der Spirochaeta pallida nicht zu erzielen wäre, so würden derartige Massenanhäufungen von lebenden Spirochaeten in einem Organ ohne jede Beimischung anderer Mikroorganismen als Reinkulturen in vivo gelten und die Reinkultur in vitro bis zu einem gewissen Grade ersetzen können. Mit diesem Material ist man imstande, das Studium der Immunisierung und Herstellung eines spezifischen Schutz- und Heilserums gegen Syphilis in Angriff zu nehmen. Für diese Studien ist es wünschenswert, ein gleichbleibendes wirksames Virus zu erhalten, das sich, unabhängig von menschlichem Material, von Hoden zu Hoden auf Kaninchen weiterimpfen läßt.

In dieser Richtung bewegen sich unsere weiteren Untersuchungen.

Nachtrag.

Während der Drucklegung vorstehender Arbeit konnten wir zwei weitere Befunde von experimenteller Kaninchensyphilis erheben, die in mancher Hinsicht interessant sind. Wir wollen deshalb über diese Fälle ausführlich berichten:

18. Fall: Am 1. Mai 1909 wurde ein mittelgroßes braunes männliches Kaninchen P mit Stückchen syphilitischer Kaninchenhornhaut (XX. Passage) beiderseits intraokular geimpft. Gleichzeitig wurde in den linken Hoden dieses Tieres ein Stückchen dieser syphilitischen Hornhaut mittels einer Kanüle eingeführt. Im Geschabe von der inneren Wand dieser erkrankten Hornhaut sowohl wie im Kammerwasser waren ziemlich viele Spirochaeten vom Typus der Pallida nachweisbar.

Nach einer Inkubationszeit von ca. 4 Wochen erkrankte das rechte Auge dieses Tieres in typischer Weise: beginnend mit einer stetig an Intensität zunehmenden Perikornealinjektion trat am oberen Rande der Hornhaut eine mäßig breite halbmond-

förmige, etwas erhabene vaskularisierte Zone auf, die sich langsam vergrößerte. Die Umgebung dieser Stelle war pupillarwärts diffus getrübt. Das Krankheitsbild war am 20. Juni 1909 das einer ausgesprochenen Keratitis parenchymatosa profunda. An diesem Tage wurde das erkrankte Auge enukleiert; im Geschabe von der hinteren Wand sowohl wie im Kammerwasser wurden zahlreiche lange, feine, typisch gewundene Spirochaeten gefunden. Es lag also hier eine syphilitische Keratitis in der XXI. Passage vor.

Mit diesem Virus wurden am selben Tage 8 weitere Kaninchen beiderseits intraokular geimpft. Nach einer Inkubationszeit von 3—4 Wochen zeigten sich bei 6 Tieren mehr oder weniger ausgesprochene Erscheinungen einer beginnenden syphilitischen Erkrankung der geimpften Augen (XXII. Passage). Heute, am 6. August 1909 sind bei diesen 6 Tieren beide geimpften Augen schwer syphilitisch erkrankt (Keratitis parenchymatosa profunda und breiter Pannus). Das Virus muß also besonders virulent gewesen sein.

Der geimpfte linke Hoden des Kaninchens P erschien am 26. Juni 1909 noch vollkommen normal und auch in der Folgezeit, bis zum 23. Juli 1909, waren keine krankhaften Veränderungen dieses Organs wahrnehmbar gewesen. Am 4. August 1909 dagegen konnten wir folgenden Befund erheben (Figur 6):

Der geimpfte linke Hoden und Nebenhoden war in seinen Größenverhältnissen wesentlich verändert. Der Nebenhoden schien verdickt, besonders der Kopf, der sich auch stellenweis etwas derber anfühlte. Der Hoden selbst war taubeneigroß, länglich oval, von derb elastischer Konsistenz und unregelmäßiger, etwas höckeriger Oberfläche. Die Skrotalhaut war intakt, aber stellenweise über dem Hoden schwer verschieblich. Es gelang nicht, den vergrößerten Hoden und Nebenhoden zu reponieren.

In der linken Leistengegend fanden sich drei kleine harte Drüsen, von denen die eine die Größe einer Linse erreichte.

Die Punktion dieses Hodens mit einer Kapillare förderte nur sehr wenig wasserklare Flüssigkeit zutage, in der sich aber massenhaft außerordentlich lebhaft bewegliche lange Spirochaeten vom Typus der Pallida fanden.

Der rechte, nicht geimpfte Hoden war vollkommen normal und leicht im Leistenkanal verschieblich. Am unteren Teil der rechten Skrotalhaut aber fand sich ein etwa zehnpfennigstückgroßes, leicht ovales tiefes Geschwür, das mit einer dicken bräunlichgrauen trockenen Borke bedeckt war. Die Umgebung dieses Geschwürs war in weitem Umkreis infiltriert und bildete um das Geschwür einen wulstigen, blaßgrauroten Wall. Das ganze Geschwür mit seiner Umgebung bildete gewissermaßen eine in die Skrotalhaut eingelegte markstückgroße, derb elastische, etwa $^1/_2$—1 cm dicke Platte. Im Aussehen erinnerte sie außerordentlich an manche Formen des menschlichen Primäraffektes der Vorhaut. Nach Ablösung der ziemlich festsitzenden dicken Borke trat ein mißfarbener Grund zutage, der von steil abfallenden scharf begrenzten, leicht blutenden Rändern umgeben war. Im Quetschserum sowohl wie im Abklatschpräparat von der Unterfläche der Borke fanden sich zahlreiche lebende typische Pallidae. Auch in der Punktionsflüssigkeit der wallartigen Umgebung fanden sich außerordentlich zahlreiche Spirochaeten, in einem

frischen Präparat sogar Massenanhäufungen in Bündelform. Aber auch die Punktionsflüssigkeit des anscheinend normalen rechten Hodens enthielt zahlreiche typische und lebhaft bewegliche Spirochaeten.

In der rechten Inguinalgegend fanden sich eine erbsengroße und eine kleinere derbe Drüse.

Gleichzeitig fand sich auch an der Analöffnung auf der linken Seite eine etwa erbsengroße, papelähnliche, etwas infiltrierte Stelle, die von einer trockenen gelblichbraunen Kruste bedeckt ist. Nach Abheben dieser Kruste zeigt sich ein leicht nässendes graurötliches, etwas vertieftes Geschwür; im Abklatschpräparat von dieser Stelle finden sich ebenfalls zahlreiche Spirochaeten vom Typus der Pallida.

Im strömenden Blut wurden Spirochaeten nicht gefunden; das Allgemeinbefinden der Tieres war entschieden gestört, das Tier war abgemagert und fraß schlecht.

Am anderen Tage wurde der linke Hoden entfernt und teils zum Weiterverimpfen auf andere Tiere, teils zu kulturellen Zwecken verwendet.

Beim Durchschneiden des Hodens zeigte sich, daß der eigentliche Hoden in einer derben, fast knorpelharten, etwa $^{1}/_{2}$ cm dicken Hülle frei beweglich lag. Diese Hülle, die im Ausstrich besonders reichlich Spirochaeten enthielt, entspricht wahrscheinlich der verdickten Tunica vaginalis (s. Anm. S. 195). Im Hoden selbst wie im Nebenhoden fanden sich zahlreiche Spirochaeten.

Fassen wir die Ergebnisse kurz resumierend zusammen, so konnten wir bei einem mit tierischem Virus (Kornea) geimpften Kaninchen zunächst an der einen Impfstelle, dem Auge, eine typische luetische Keratitis erzeugen. Nach einer Inkubationszeit von 11—12 Wochen zeigte sich auch im anderen geimpften Organ, dem linken Hoden, eine Haftung des syphilitischen Virus unter charakteristischen krankhaften Veränderungen. Gleichzeitig aber trat am anderen nicht geimpften Hoden ein großes außerordentlich charakterstisches Geschwür auf und ein papulokrustöses Syphilid am Anus. Der rechte, anscheinend gesunde Hoden enthielt ebenfalls Spirochaeten. Diese Erscheinungen waren von typischer Leistendrüsenschwellung begleitet.

Ob bei der Erkrankung der rechten Skrotalhaut und der Analgegend eine Infektion auf dem Blutwege stattgefunden hat, also eine Allgemeininfektion dieses Tieres bereits stattgefunden hat (und hierfür sprechen die typisch veränderten Lymphdrüsen), oder ob es sich hier um eine Kontaktinfektion von dem geimpften linken Hoden aus handelt, vermögen wir nicht mit Sicherheit festzustellen.

Die andere Beobachtung, die wir im Laufe der Zeit aber an unserem geimpften Material erheben konnten, spricht für die erstere Annahme.

Bei dem Kaninchen, das wir unter Fall 13 beschrieben haben, und das in den linken Hoden am 27. Mai 1909 mit menschlichem Virus geimpft worden war und ein positives Resultat ergeben hatte, begann, nachdem der linke Hoden schon längst (am 14. Juli 1909) entfernt worden war, auch der rechte, nicht geimpfte, bis dahin scheinbar völlig normale Hoden langsam sich zu vergrößern. Heute, am 4. September 1909 präsentiert sich dieser Hoden als über taubeneigroßer, elastischer Tumor. Hoden und Nebenhoden sind nicht oder nur wenig differenzierbar, die Ober-

fläche ist vollkommen intakt und die Skrotalhaut nirgends mit der Unterlage verwachsen. Der Tumor ist nicht durch den Leistenkanal zurückzuschieben. Der Samenstrang erscheint etwas verdickt; Drüsen sind in der rechten Leistengegend nicht mit Sicherheit zu fühlen.

Die Punktionsflüssigkeit enthielt massenhaft Spirochaeten vom Typus der Pallida.

Da also in diesem Falle eine äußere Verletzung des Skrotums und damit eine Kontaktinfektion, vielleicht noch zu der Zeit, da der geimpfte und typisch erkrankte linke Hoden noch nicht entfernt war, ausgeschlossen ist, muß die Infektion des rechten Hodens auf dem Blut- oder Lymphwege stattgefunden haben und bei dieser mit großer Wahrscheinlichkeit bei dem vorigen Tier eine Generalisation des Virus bezw. Durchseuchung des Organismus mit Syphilis erzeugt haben.

Weitere Anhaltspunkte (Nachweis der Spirochaeten im Blut) haben wir für diese Annahme bisher noch nicht gewinnen können.

Sehr beachtenswert sind aber noch zwei andere Resultate, die wir in der letzten Zeit gewonnen haben.

19. Fall. Von 6 Kaninchen, die mit einem Stückchen des syphilitisch erkrankten und sehr spirochaetenreichen Hodens von Fall 13 intraokular geimpft worden waren, erkrankte nämlich nach einer Inkubationszeit von 5—6 Wochen bei einem Kaninchen das linke Auge in typischer Weise (starke Perikornealinjektion, halbmondförmige Gefäßneubildung vom Rande der Kornea her, leichte diffuse Trübung). Während weiterer 14 Tage nahmen diese Krankheitserscheinungen, insbesondere die Trübung in der Tiefe zu und als das Auge dann entfernt wurde, fanden sich im Geschabe von der hinteren Hornhautwand massenhaft typische Syphilis-Spirochaeten.

20. Fall. Am 5. August 1909 waren mehrere Kaninchen mit dem syphilitischen, stark spirochaetenhaltigen Hodenmaterial, also tierischem Virus des Kaninchens, das wir unter Fall 18 beschrieben haben, in den linken Hoden in üblicher Weise geimpft worden. Am 6. September 1909, also nach vier Wochen, fand sich bei einem dieser Tiere am linken geimpften Hoden und zwar im unteren Drittel, vielleicht der Einstichstelle entsprechend, eine halbkugelige, aus dem Hodenparenchym herausstehende etwa erbsengroße Hervorwölbung von glatter Oberfläche und elastischer Konsistenz. Die Skrotalhaut war über dieser Stelle völlig intakt und nicht mit der Unterlage verwachsen. In der schleimigen, aber klaren Punktionsflüssigkeit, die aus dieser blasenartigen Stelle gewonnen wurde, fanden sich massenhaft lebhaft bewegliche Pallidae.

Es ist uns somit gelungen, eine positive Übertragung (I. Passage) vom syphilitisch erkrankten, spirochaetenhaltigen Hoden eines Kaninchens bei einem zweiten Kaninchen zu erzielen. Weitere Passagen von Hoden zu Hoden werden hoffentlich von Erfolg sein[1]).

---

[1]) Dies ist uns inzwischen gelungen, indem wir bei dem einen von zwei mit dem Material des letzten Tieres (Fall 20) geimpften Kaninchen bereits nach 5 Wochen einen in typischer Weise stark vergrößerten Hoden mit zahlreichen Spirochaeten erzielten. Es scheint demnach, als ob das Virus bereits in der II. Passage virulenter geworden wäre. Bemerkt sei übrigens noch, daß wir vor kurzem einen neuen typischen Primäraffekt der Skrotalhaut nach Impfung mit luetischer Kaninchenkornea in die Hodensubstanz eines Kaninchens erzielten.

Literatur.

1. E. Bertarelli, „Über die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen". Zentralbl. f. Bakt. 1906, Orig. Bd. XLI, S. 320.

2. Brieger und Uhlenhuth, „Über die Versuche der Übertragung der Syphilis auf Tiere und über Serumtheraphie bei Syphilis". Klin. Jahrbuch 1899, 7. Bd., S. 293.

3. Greeff und Clausen, „Spirochaete pallida bei experimentell erzeugter interstitieller Hornhautentzündung". Deutsch. med. Wochenschr. 1906, S. 1454.

4. Grouven, Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 42, 1909, S. 645.

5. P. Haensell, „Vorläufige Mitteilung über Versuche von Impfsyphilis der Iris und Cornea des Kaninchenauges". A. v. Graefes Archiv f. Ophth. Bd. XXVII, S. 93.

6. E. Hoffmann und E. Brüning, „Gelungene Übertragung der Syphilis auf Hunde". Deutsch. med. Wochenschr. 1907, S. 553.

7. E. Hoffmann, Löhe und P. Mulzer, „Syphilitischer Initialaffekt der Bauchhaut an der Einstichstelle nach Impfung in die Hoden von Affen und Kaninchen". Deutsch. med. Wochenschr. 1908, S. 1183.

8. Kraus und Volk, Verhandl. der Deutsch. dermat. Gesellschaft, IX. Kongreß, S. 244.

9. Levaditi und Yamanuchi, „Syphilisimpfung an der Kaninchenhornhaut". Compt. rend. des séanc. de la soc. de Biol. Bd. 64, S. 457.

10. Menzincescu, „Hodensyphilome bei Kaninchen nach Impfung mit syphilitischem Virus". Deutsch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 27, S. 1188.

11. P. Mühlens, „Untersuchungen über Spirochaete pallida und einige andere Spirochaetenarten, besonders in Schnitten". Berl. klin. Wochenschr. 1907, S. 351.

12. A. Neißer, Verhandl. d. Deutsch. derm. Ges. IX. Kongreß, S. 8—11.

12a. Derselbe, Dermat. Zeitschr. 1908, Nr. 2, S. 73.

13. v. Niessen, „Experimentelle Kaninchensyphilis". Verh. des IX. Kongr. d. Deutsch. derm. Ges. 1908.

14. Scherber, „Durch Syphilisimpfung erzeugte Keratitis parenchymatosa beim Kaninchen". Wiener klin. Wochenschr. 1906, S. 726.

15. Siegel, „Neue Untersuchungen über die Ätiologie der Syphilis". Münch. med. Wochenschr. 1905, S. 1384.

16. U. Parodi, „Über die Übertragung der Syphilis auf den Hoden des Kaninchens". Zentralbl. f. Bakt. 1907, Orig. Bd. 44, S. 428.

17. Tomaszewski, „Übertragung der experimentellen Augensyphilis des Kaninchens von Tier zu Tier". Münch. med. Wochenschr. 1907, S. 1023.

18. Truffi, „Über die Übertragung eines menschlichen syphilitischen Primäraffektes auf die Haut des Kaninchens". Zentralbl. f. Bakt. Orig. 1909, Bd. XLVIII, S. 596.

19. Uhlenhuth und Weidanz, „Untersuchungen über die präventive Wirkung des Atoxyls im Vergleich mit Quecksilber bei der experimentellen Kaninchensyphilis". Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 20.

20. Uhlenhuth, Demonstration einer experimentell bei Kaninchen erzeugten Hodensyphilis. Berl. militärärztl. Gesellschaft 21. Mai 1909. Deutsche militärärztl. Zeitschrift 1909, s. auch Verhandlungen der Freien Vereinigung für Mikrobiologie. Pfingsten 1909.

Abbildungen.

Fig. 1. „Orchitis syphilitica dextra" (Fall 1). 71 Tage nach der Impfung.

Fig. 2. „Längsschnitt durch den erkrankten Hoden" (Haem. Eos.). Leitz Oc. 1. Obj. 1.

Fig. 3. „Schnitt durch myxomatöses Hodengewebe" (ältere Levaditi-Methode). Leitz Öl. Im. Oc. 4.

Fig. 4. „Geschwür an der Einstichstelle" (49 Tage nach der Impfung).

Fig. 5. „Erosion chankreuse" (50 Tage nach der Impfung).

Fig. 6. Orchitis syphilitica sinistra (geimpfte Hoden). Primäraffekt-ähnliche Geschwüre auf der Skrotalhaut des nicht geimpften Hodens und am After.

Ein Sauger zur Entnahme von Saugserum.

Von

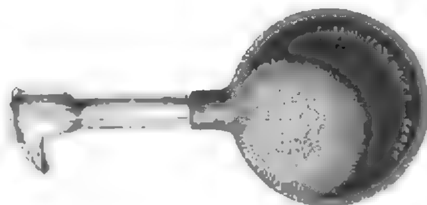
Prof. Dr. A. Schuberg, Regierungsrat und Dr. P. Mulzer, wissenschaftl. Hilfsarbeiter

im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Bei Untersuchungen über Syphilis-Spirochaeten hat sich uns die Anwendung einer Modifikation des Bier-Klappschen Saugers als vorteilhaft erwiesen, deren Kenntnis wohl auch andern nicht unerwünscht sein dürfte.

Verwendet man die gewöhnlichen Sauger zur Gewinnung von Saugserum, etwa aus syphilitischen Primäraffekten und Papeln, so verbreitet sich die gewonnene Flüssigkeit weithin an der Oberfläche des Glases. Infolgedessen ist es nicht ganz leicht, sie, zu Zwecken der Untersuchung oder Impfung auf Versuchstiere, abzunehmen, zumal dann, wenn es sich, wie es meistens der Fall ist, nur um geringe Mengen von Flüssigkeit handelt; durch die Ausbreitung in dünner Schicht wird außerdem das Eintreten der Gerinnung beschleunigt.

Um diesen Übelständen zu begegnen, lassen wir an der Glocke des Saugers, nahe dem freien Rande, ein Glasröhrchen anschmelzen, dessen geschlossenes Ende etwas gegen den Gummiballon des Saugers zu geneigt ist. Die Länge dieses Röhrchens kann man, je nach dem Zwecke oder nach der Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit, größer oder kleiner wählen.



Die Handhabung erfolgt in der gleichen Weise wie die der gewöhnlichen Sauger; nur muß beim Ansetzen dafür Sorge getragen werden, daß das Röhrchen nach unten herabhängt und daß seine Öffnung nicht durch das in das Saugglas hineingezogene Gewebe verschlossen wird. Wird nun gesaugt, so sammelt sich die gewonnene Flüssigkeit in dem Röhrchen an. Man kann auf diese Weise leicht den Erfolg des Saugens beobachten und namentlich auch bequem wahrnehmen, ob und wann die Beimischung von Blut stärker zu werden beginnt. Die Menge von Flüssigkeit, die zur weiteren Verwertung verfügbar wird, ist überdies größer als bei den gewöhnlichen Saugern.

Aus dem Glasröhrchen kann das Serum mit einer ausgezogenen Pipette oder der Platinöse leicht entnommen werden.

Der Sauger hat sich, besonders in einer kleineren Form (Durchmesser der Glocke im Lichten 8 mm) im Gebrauche sehr gut bewährt und dürfte für die Entnahme von Serum auch in der Praxis, zu diagnostischen Zwecken, von Nutzen sein; er kann von F. u. M. Lautenschläger, Berlin, bezogen werden.

Ende des 1. Heftes.

Abgeschlossen am 3. November 1909.

Zur Kenntnis der bleihaltigen Glasuren und deren Bleiabgabe an saure Flüssigkeiten[1]).

Von

Dr. Karl Beck,
Regierungsrat,

Dr. Löwe, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter und **Dr. Stegmüller,** wissenschaftlichem Hilfsarbeiter

im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Inhalt: Einleitung. Die Bedeutung der Löslichkeit des in den Glasuren vorhandenen Bleis für die Gefährdung der menschlichen Gesundheit. Übersicht über die Ergebnisse der wichtigsten wissenschaftlichen Untersuchungen von Bleiglasuren. Experimenteller Teil (I, 1—5 gemeinschaftlich mit Dr. Löwe und Dr. Stegmüller. I, 6 bis Schluß gemeinschaftlich mit Dr. Stegmüller). I. Versuche mit gemahlenen Glasuren. 1. Das Versuchsmaterial; 2. das Untersuchungsverfahren; 3. die Ergebnisse der Löslichkeitsversuche bei 25°, a) das Verhalten der Bleiglasuren gegen 1%ige Salpetersäure und 4%ige Essigsäure, b) der Einfluß der Versuchsdauer auf die Bleiabgabe der Glasuren, c) der Einfluß verschiedener Zusätze zu den Bleiglasuren auf deren Bleiabgabe; 4. Allgemeine Schlußfolgerungen aus den vorstehenden Versuchsergebnissen; 5. das Verhalten der Glasuren beim ½ stündigem Kochen mit 4%iger Essigsäure, 6. Über die Erweichungspunkte der Bleiglasuren. II. Versuche mit aufgebrannten Glasuren. III. Versuche mit Kochgeschirren unter besonderer Berücksichtigung ihrer Herstellung. 1. Das Versuchsmaterial; 2. die Untersuchungsverfahren, a) das qualitative Prüfungsverfahren, b) das quantitative Prüfungsverfahren; 3. das Ergebnis der Prüfung der Geschirre; 4. Schlußfolgerungen für die Herstellung und den Verkehr mit den untersuchten Kochgeschirren.

Einleitung.

Den mannigfachen Vorzügen, welche den bleihaltigen Glasuren für Tonwaren vom technischen Standpunkte aus zugesprochen werden müssen, steht die Gefährdung der menschlichen Gesundheit gegenüber, die unter Umständen mit der Herstellung solcher Glasuren und dem Gebrauch so glasierter Geschirre verbunden sein kann. Der Möglichkeit einer Bleivergiftung sind in dem vorliegenden Falle in erster Linie diejenigen Personen ausgesetzt, welche sich mit der Herstellung der Glasuren befassen, wobei unter der Herstellung besonders das Äschern, Mahlen, Mischen und Zusammenschmelzen (Fritten) des bleihaltigen Rohmaterials, die Weiterverarbeitung der durch das Zusammenschmelzen erhaltenen Fritten sowie schließlich das Glasieren von Gegenständen und die Fertigstellung der gebrannten Ware zu verstehen sind. In zweiter Linie kommen die Käufer der fertigen glasierten Gegenstände in Betracht, soweit die letzteren als Eß-, Trink- und Kochgeschirre verwendet werden und bei ihrem bestimmungsgemäßen Gebrauch an die in ihnen hergestellten Speisen Blei abgeben

---

[1]) Über einen Teil der hier beschriebenen Untersuchungsergebnisse ist bereits auf der 21. Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker zu Jena 1908 berichtet worden (Referat, Zeitschr. f. angew. Chemie Bd. 21 [1908], S. 1351).

können. Mit Rücksicht auf die zuletzt ausgesprochene Gefahr schreibt das Gesetz, betreffend den Verkehr mit blei- und zinkhaltigen Gegenständen vom 25. Juni 1887 vor, daß Eß-, Trink- und Kochgeschirre sowie Flüssigkeitsmaße nicht mit Email oder Glasur versehen sein dürfen, welche bei halbstündigem Kochen mit einem in 100 Gewichtsteilen 4 Gewichtsteile Essigsäure enthaltenden Essig an den letzteren Blei abgeben.

Da die Abgabe von Blei an verdünnte Säuren als Maß für die Gefährlichkeit der bleihaltigen Glasuren angesehen werden kann, so gehen die Bestrebungen zur Herstellung gesundheitlich einwandfreier bleihaltiger Glasuren darauf hinaus, die Glasuren gegen die Einwirkung von verdünnten Säuren, besonders von 4%iger Essigsäure, widerstandsfähig zu machen, und die zahlreichen in dieser Hinsicht angestellten Versuche haben vielfach den Erfolg gehabt, die Abgabe von Blei seitens der verwendeten Glasuren bis auf das gewünschte Maß zurückzudrängen. Indessen sind die Anforderungen, welche von den in Betracht kommenden Gewerben an eine Glasur gestellt werden, so mannigfaltig, daß in vielen Fällen eine nicht geringe Schwierigkeit entsteht, eine allen Ansprüchen des Gewerbes und der Gesundheitspflege entsprechende Glasur zu gewinnen. Auch gibt es nach den bisherigen Erfahrungen keinen vollkommenen Ersatz für das Blei, auf dessen Vorhandensein manche hervorragende Eigenschaft der Glasur, namentlich gute Schmelzbarkeit und hoher Glanz, zurückzuführen ist. Die große Zahl von Untersuchungen auf dem Gebiet der bleihaltigen Glasuren ist fast ausschließlich von praktischen Gesichtspunkten geleitet worden, während die wissenschaftliche Bearbeitung der Frage über die Löslichkeit der in den Glasuren enthaltenen Bleiverbindungen sich noch in den Anfängen befindet.

In erster Linie sind in dieser Hinsicht die umfassenden Versuche zu erwähnen, welche von Thorpe[1]) im Auftrage der großbritannischen Regierung ausgeführt worden sind und dieser als Grundlage für die gesetzliche Regelung der Frage betreffend den Schutz der Arbeiter in Betrieben, in denen bleihaltige Glasuren verwandt werden, gedient haben. Die Untersuchungen Thorpes erstreckten sich auf die Ermittelung der chemischen Zusammensetzung und der Bleiabgabe einer großen Zahl von Glasuren und Fritten, welche in den keramischen Betrieben Großbritanniens sowie des Auslandes Verwendung finden. Die Prüfung auf die Abgabe von Blei fand in der Weise statt, daß Proben von je 0,1 g der in einem Achatmörser zu einem feinen Pulver zerriebenen Glasuren mit 100 ccm 0,25%iger und 0,05%iger Salzsäure sowie 0,05%iger Essigsäure 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur geschüttelt wurden. Von den Ergebnissen, auf welche im einzelnen noch später einzugehen ist, seien als besonders bemerkenswert die folgenden hervorgehoben:

Innerhalb der bei den Versuchen eingehaltenen Grenzen ist die Feinheit des Pulvers, die Korngröße, von untergeordneter Bedeutung für die Abgabe von Blei, da sich die Pulver, wenn auch nicht in vollkommen übereinstimmendem, so doch in äußerst ähnlichem Zustande befinden.

---

[1]) Lead compounds in Pottery. Report to His Majesty's Principal Secretary of State for the Home Department. London: 1899 (Report 1899) und 1901 (Report 1901).

Die Glasuren stellen keine einheitlichen chemischen Verbindungen dar. Nur ein Teil des in ihnen enthaltenen Bleis ist in einer unter den gegebenen Bedingungen löslichen Form vorhanden.

Die Abgabe von Blei seitens einer Glasur ist gering — bei den untersuchten Proben unter 2% —, wenn ihre Zusammensetzung derart ist, daß der Quotient $\frac{\text{Saure Moleküle}}{\text{Basische Moleküle}}$ größer als 1,9 ist.

Greifenhagen[1]) berichtet über Versuche, die sich an die Thorpeschen Arbeiten anlehnen und den Zweck verfolgten, einerseits den Zusammenhang zwischen der Bleiabgabe und dem Kieselsäuregehalt der Bleisilikate zu ermitteln und anderseits nach einem geeigneten Ersatz für das Blei zu suchen. Greifenhagen gelangt zum Teil zu anderen Ergebnissen wie Thorpe. So glaubt er, der Korngröße des Pulvers eine wesentliche Bedeutung für die Bleiabgabe zuschreiben zu müssen und erwähnt ein Beispiel, wo eine Glasur das eine Mal eine Bleiabgabe von 2,84%, das andere Mal in einem weniger fein gemahlenen Zustand von 1,53% aufwies. Die Versuche, welche mit reinen Bleisilikaten, wie $PbO \cdot SiO_2$, $PbO \cdot 2SiO_2$, $PbO \cdot 3SiO_2$, $PbO \cdot 4SiO_2$ und $PbO \cdot 5SiO_2$ angestellt wurden, ließen keinen sicheren Schluß über die Abhängigkeit der Bleiabgabe von dem Verhältnis $\frac{\text{Saure Moleküle}}{\text{Basische Moleküle}}$ zu, und es erwiesen sich die sämtlichen oben genannten Bleisilikate als verhältnismäßig leicht löslich in 0,5%iger und 0,05%iger Salzsäure sowie in 1%iger Essigsäure. Vorausgenommen sei jedoch, daß die Versuche in dieser Hinsicht als nicht einwandfrei gelten können. Die Bemühungen, einen Ersatz für das Blei zu finden, hatten ein negatives Ergebnis, insofern als die Beschaffenheit der aufgebrannten bleifreien Glasuren ihre praktische Verwendung ausschloß.

In der letzteren Beziehung bieten die Versuche von Seger[2]), die sich mit dem Ersatz für Blei bei den höher schmelzenden Steingutglasuren beschäftigten, anscheinend bessere Aussichten auf Erfolg, da er auf Grund seiner Versuche in dem Baryum den geeigneten Ersatzstoff gefunden haben will. Auch gelang es Seger, einige andere Ergebnisse von allgemeiner Bedeutung, wie die Abhängigkeit des Ausdehnungskoeffizienten von der chemischen Zusammensetzung einer Glasur, zu erhalten. Die Löslichkeit der Glasuren fand indessen keine weitere Berücksichtigung.

In einer Abhandlung „Ungiftige bleihaltige Glasuren im Sinne des Gesetzes" teilt Koerner[3]) das Ergebnis von Versuchen mit, welche sich mit der Bindung des Bleis in den Glasuren und der Verbesserung der bleihaltigen Glasuren in gesundheitlicher Beziehung beschäftigten. Die Prüfung der Glasuren bezüglich ihrer Widerstandsfähigkeit gegen 4%ige Essigsäure fand in der Weise statt, daß 10 g Glasur in der Form von Perlen oder Fäden ½ Stunde lang mit 250 ccm Essig gekocht und die in dem Essig gelösten Mengen Blei quantitativ bestimmt wurden.

---

[1]) Beiträge zur Bleifrage in der Steingutfabrikation. Sonderbeilage zum Bericht über die 29. Hauptversammlung des Verbandes keramischer Gewerbe im Jahre 1906.

[2]) Seger, Über Glasuren mit besonderer Berücksichtigung bleifreier für Steingut. Berlin, Expedition der Tonindustrie Zeitung. Berlin 1884.

[3]) Sprechsaal, 1906, Teil I.

Als Grund für die Abgabe von Blei seitens der Bleisilikate bis einschließlich des Trisilikates nimmt Koerner an, daß in diesen das Blei nicht vollkommen gebunden, z. T. sogar als Bleioxyd (und Blei) gelöst ist.

Durch einen Zusatz von Tonerde gelang es Glasuren herzustellen, die der Einwirkung des Essigs bei dem obigen Verfahren widerstanden. Allerdings konnten sie erst bei höherer Temperatur verwendet werden, als für das gewöhnliche Irdengeschirr zulässig ist, auch mußten die Glasuren vorher gefrittet werden.

Direkt aufschmelzbare Glasuren konnten durch einen weiteren Zusatz von Zinkoxyd zu dem Glasuransatz erhalten werden, jedoch lag deren Verwendbarkeit bei noch höherer Temperatur.

Das in gesundheitlicher Beziehung günstige Ergebnis Koerners konnte von Pukall[1]) nicht bestätigt werden, als Versuche mit entsprechenden Glasuren in der Praxis ausgeführt wurden. So erwähnt Pukall z. B., daß ein mit einer nach den Vorschriften von Koerner dargestellten und als unlöslich beschriebenen Glasur versehener Topf an den 4%igen Essig nicht weniger als 0,01 g Bleiacetat auf 1 Liter Kochflüssigkeit abgab. Auch eine von Cramer[2]) als widerstandsfähig bezeichnete Bleiglasur, welche tonerdehaltig war, teilte das gleiche Schicksal. Bei der Untersuchung einer großen Anzahl von im Verkehr befindlichen irdenen Kochgeschirren, die aus dem Inlande und dem Auslande stammten, stellt Pukall[3]) fest, daß die sämtlichen Geschirre bei der gesetzlich vorgeschriebenen Prüfung geringe Mengen Blei abgaben und schloß hieraus, daß bei einer wörtlichen Auslegung die Bestimmungen des Blei-Zink-Gesetzes einem gänzlichen Verbot der Verwendung von Bleiglasuren bei der Herstellung des Irdengeschirrs gleich kämen. Als Grund für die Abgabe von geringen Bleimengen kommt nach seiner Ansicht die Entstehung von Bleisulfat aus dem verwendeten Bleiglanz bei dem Vorgang des Brennens in Betracht.

Von Bedeutung für die wissenschaftliche Beurteilung der Frage über die Bleiabgabe seitens der Bleiglasuren ist sodann noch eine Anzahl von größeren Untersuchungen, bei denen das praktische Bestreben eine hygienische Verbesserung der mit Bleiglasuren versehenen Irdengeschirre herbeizuführen, vorwiegend war. Bezüglich der älteren hier in Betracht kommenden Arbeiten darf auf die dem Entwurf des Gesetzes betreffend den Verkehr mit blei- und zinkhaltigen Gegenständen beigegebenen technischen Erläuterungen von Wolffhügel[4]) verwiesen werden. Nach den Ergebnissen dieser Arbeiten beruht die Abgabe von Blei auf der ungenügenden Bindung des Bleis in der Glasur, wofür in der Hauptsache ein ungünstiges Mengenverhältnis der Glasurbestandteile, besonders von Blei und Kieselsäure, oder ein nicht genügendes und fehlerhaftes Brennen verantwortlich gemacht werden. Der letzte Grund gab zu dem vielfach wiederkehrenden Vorschlag Veranlassung, nur gefrittete Glasuren zu verwenden. Bis zu welchem Grade die Abgabe von Blei unter Beobachtung dieser Gesichtspunkte vermieden werden konnte, geht namentlich aus den Berichten der tech-

[1]) Sprechsaal, 1906, Teil I, S. 981.
[2]) Tonindustrie-Zeitung 1903, S. 1224.
[3]) Sprechsaal, 1906, Teil I, S. 938.
[4]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 2 (1887), S. 83—87.

nischen Deputation in Dresden über die Versuche betreffend das Königsbrucker Schwarztöpfergeschirr aus den Jahren 1880 und 1885[1]) hervor. Es gelang Geschirr so herzustellen, daß beim Auskochen desselben mit 3%igem Essig beachtenswerte Mengen von Blei nicht gelöst wurden.

Aus der Zeit nach dem Inkrafttreten des Blei-Zink-Gesetzes sind noch zwei größere experimentelle Arbeiten zu nennen. Gelegentlich der Prüfung der Lage des Töpfereigewerbes in Hirschhorn, Neckarsteinach und Urberach seitens der Großherzoglich Hessischen chemischen Prüfungs- und Auskunfts-Station für die Gewerbe[2]) waren von 53, verschiedenen Betrieben entnommenen Geschirrproben sämtliche von solcher Beschaffenheit, daß sie zum mindesten qualitativ nachweisbare Mengen von Blei bei der gesetzlichen Kochprobe abgaben, somit den gesetzlichen Anforderungen nicht entsprachen. Die in dem Gutachten geäußerte Ansicht geht dahin, daß durch Einhalten eines bestimmten Mengenverhältnisses der einzelnen Glasurbestandteile sowie durch die Auswahl von nur gut gebranntem Geschirr die Schwierigkeiten gehoben werden könnten, jedoch sollte man in den Anforderungen nur soweit gehen, daß eine Beanstandung erst dann zu erfolgen habe, wenn bei ½stündigem Kochen durch 100 ccm 4%igen Essig dem Geschirr mindestens 1 mg Blei entzogen würde.

Von wesentlich günstigeren Versuchsergebnissen berichtet Stockmeier[3]). Eine vollkommenere Bindung des Bleis suchte er dadurch zu erreichen, daß er die Kieselsäure in der besonders leicht schmelzbaren Form von Infusorienerde anwandte, und es gelang ihm auch auf diese Weise Glasuren zu erzeugen, die den Anforderungen des Blei-Zink-Gesetzes vollkommen entsprachen. Jedoch scheinen diese günstigen Ergebnisse einer Verallgemeinerung nicht fähig zu sein: So zeichnen sich nach der Angabe von Steinbrecht[4]) die Infusorienerde-Glasuren gerade durch eine leichte Angreifbarkeit aus, welche das bereits nach kurzem Gebrauch erfolgende Blindwerden der Glasuren und eine außerordentlich leichte und starke Bleiabgabe seitens derselben bewirken soll.

Die Frage, ob und mit welchen Mitteln es gegebenen Falles zu erreichen ist, die Abgabe von Blei seitens der bleihaltigen Glasuren vollständig zu vermeiden, ist noch nicht spruchreif. Es fehlt auf diesem Gebiet an den hierfür notwendigen genauen Kenntnissen über die Art, nach der die Bindung des Bleis in den Glasuren erfolgt. Dafür, daß in dieser Hinsicht die Verhältnisse in den Bleiglasuren, welche als ein Gemisch von verschiedenen Verbindungen zu erblicken sind, nicht ganz einfach liegen, hat Thorpe[5]) einige wichtige Tatsachen feststellen können.

Abgesehen von dem Umstande, daß nur ein Teil der in einer Glasur vorhandenen gesamten Bleimenge durch die Säure gelöst wird, ist das Mengenverhältnis der basischen Bestandteile in der Lösung verschieden von dem in der ursprünglichen Glasur vorhandenen, insofern als Alkali und Erdalkali in größerer, Tonerde und Blei-

---

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 2 (1887), S. 85.

[2]) Bericht vom 29. Juni 1892.

[3]) Forschungsberichte über Lebensmittel pp. Bd. 1 (1894), S. 41, Bd. 2 (1895), S. 95.

[4]) Keramische Rundschau 1903, S. 1008.

[5]) Report 1901, S. 35.

oxyd in geringerer Menge, als es der Zusammensetzung der Glasur entsprechen würde, in Lösung gehen. Die Tatsache stimmt mit Versuchsergebnissen von Kohlrausch[1]) überein, der fand, daß die Leitfähigkeit von reinem Wasser, welches in Geräten aus Bleiglas aufbewahrt wurde, mit dem Alkaligehalt des Bleiglases zunahm, d. h. daß die alkalireichen Sorten leichter löslich waren. Auch die den Chemikern durch die Arbeiten von Stas bekannte Eigenschaft der verschiedenen Glassorten, anfänglich eine geringe Löslichkeit zu zeigen, welche erst nach einigem Gebrauch oder erst nach dem Auskochen mit Säuren verschwindet, steht hiermit im Einklang.

Thorpe[2]) zeigte, daß schon durch den Vorgang des Mahlens eine Glasur in Fraktionen getrennt werden kann. Die bleireichen Bestandteile der Glasur werden infolge ihrer weicheren Beschaffenheit leichter zu einem feinen Pulver zermahlen. Trennt man infolgedessen eine gemahlene Probe durch Absieben der feinsten Teilchen, so erweist sich der durch das Sieb gegangene Teil infolge seines höheren Bleigehalts als spezifisch schwerer.

Die Widerstandsfähigkeit der aufgebrannten Glasuren wird durch den Einfluß der zusammenhängenden Oberfläche sehr erhöht, sodaß vorauszusehen ist, daß eine aufgebrannte Bleiglasur im allgemeinen weniger leicht zur Abgabe von Blei beim Behandeln mit verdünnten Säuren neigt, als eine feingemahlene Fritte, wodurch die Unterschiede, welche auf den chemischen Eigenschaften der einzelnen Glasurbestandteile beruhen, nicht so deutlich zutage treten können. Einfacher und genauer lassen sich die rein chemischen Verhältnisse auf Grund von Versuchen ermitteln, die mit fein gepulverten Glasuren, bei denen man sich nach Möglichkeit von dem Einfluß der Oberfläche befreit hat, ausgeführt werden. Dementsprechend sind die im folgenden näher beschriebenen Versuche zunächst mit gepulverten Bleiglasurproben angestellt worden. Später wurden die gleichen Proben zur Herstellung von Glasurüberzügen benutzt, mit welchen alsdann vergleichende Versuche ausgeführt werden konnten.

Experimenteller Teil.

I. Versuche mit gemahlenen Glasuren.

1. Das Versuchsmaterial.

Als Ausgangsmaterial für die Versuche, welche zur Aufklärung der Ursachen für die Bleiabgabe der Glasuren ausgeführt wurden, dienten die denkbar einfachsten Bleiglasuren, die Bleisilikate. Durch das Hinzufügen von verschiedenen Zusätzen wie Borax, Borsäure, Kalk und Tonerde zu den Ausgangsglasuren konnte alsdann der Einfluß der genannten Zusätze festgestellt werden.

Die Darstellung der Silikate fand in folgender Weise statt. Reines Bleioxyd und gefällte reine Kieselsäure, beide von der Firma Kahlbaum in Berlin bezogen, wurden in Mengen, welche dem Verhältnis von 1 Molekül Bleioxyd (PbO) zu 1, 2, 3, 4 und gegebenen Falles 5 Molekülen Kieselsäure (SiO_2) entsprachen, in einer Flasche

[1]) Berichte der deutschen Chem. Ges. 1891, S. 3560.
[2]) Report 1901, S. 86.

von $^1/_2$ Liter Inhalt durch kräftiges Schütteln gut miteinander gemischt. Die Gemische wurden hierauf in hessische Tiegel gebracht und in elektrischen Tiegelöfen von Heraeus, welche bei einem eignen Leitungswiderstand von etwa 40 Ohm und ohne Vorschaltwiderstand an die Lichtleitung von 110 Volt Spannung angeschlossen sich in kurzer Zeit auf eine Temperatur von etwa 1100 Grad[1]) einstellen, geschmolzen. Je nach dem Verhältnis von Bleioxyd und Kieselsäure waren verschiedene Zeiten erforderlich, bis sich eine klare, leichtflüssige Schmelze gebildet hatte. Die Mono- und Disilikate konnten in 2 bezw. 4 Stunden, die Tri- und Tetrasilikate dagegen erst in 12—15 Stunden klar erhalten werden. Die klare Schmelze wurde aus dem Tiegel auf ein Eisenblech oder, was zur besseren späteren Bearbeitung mehr zu empfehlen ist, in ein mit Wasser gefülltes Gefäß gegossen. Die erstarrten durchsichtigen Gläser wurden in einem Achatmörser zu einem feinen Pulver zerrieben und in diesem Zustande für die Untersuchungen verwendet.

Auf diese Weise ließen sich die einfachen Bleisilikate bis zum Bleitetrasilikat leicht gewinnen, während bei weiterem Steigern des Kieselsäuregehaltes eine klare Schmelze bei der angewandten Temperatur nicht mehr erhalten werden konnte.

Die Borax-, Borsäure-, Kalk- und Tonerde-haltigen Silikate unterschieden sich von den einfachen Bleisilikaten dadurch, daß bei ihrer Herstellung ein Zusatz von je 5 g bezw. 2,5 g der genannten Stoffe in wasserfreiem Zustande zu 100 g des Gemisches von Bleioxyd und Kieselsäure erfolgte. Schon bei der Darstellung der Silikate konnte ein Einfluß der Zusätze wahrgenommen werden. Bei einem Zusatz von Borax bezw. Borsäure bildeten sich die klaren Schmelzen leichter und waren bei weitem dünnflüssiger, sodaß bei der Verwendung von Borax auch eine Probe mit einem Gehalt von 5 Mol. SiO_2 auf 1 Mol. PbO dargestellt werden konnte. Kalk und in noch höherem Grade Tonerde wirkten im entgegengesetzten Sinne und die Produkte wurden strengflüssiger.

Da Bleioxyd bei der angewandten Schmelztemperatur in merklicher Weise verdampft, wurde der hierdurch entstehende Bleiverlust durch die Analyse ermittelt. Zu diesem Zweck wurden die Silikate mit der etwa 8-fachen Menge eines Gemisches von Natrium- und Kaliumkarbonat geschmolzen. Die Schmelze wurde mit 20%iger Essigsäure ausgekocht und, nachdem von der ausgeschiedenen Kieselsäure abfiltriert war, wurde das Blei nach dem später genau beschriebenen jodometrischen Verfahren bestimmt.

Die Bestimmung des Bleigehaltes einer Bleiglasur läßt sich auf diese Weise in etwa 3 Stunden durchführen. Die Genauigkeit des Verfahrens mag aus dem Folgenden hervorgehen. Von der später noch näher beschriebenen „V-Glasur", welche neben Kieselsäure und Blei erhebliche Mengen von Zinn, Antimon, Aluminium, Kalzium uud Alkalien enthielt, wurden Bleibestimmungen einmal nach dem obigen jodometrischen Verfahren, ein zweites Mal durch Fällen des Bleis mit Schwefelwasserstoff, Lösen des

---

[1]) Nach Angabe der Firma Heraeus vgl. auch Chemiker-Zeitung Jahrgang XXX (1906), S. 824.

abfiltrierten Bleisulfids und Fällen sowie Wägen des Bleis in der Form von Bleisulfat in der üblichen Weise ausgeführt. Die Ergebnisse waren wie folgt.

Ermittelter Bleigehalt der V-Glasur	
nach dem ersten Verfahren	nach dem zweiten Verfahren
1. 22,86 % Blei 2. 22,68 „ „	1. 22,9 % Blei 2. 22,44 „ „

Die folgenden Tabellen geben eine Übersicht über den Bleigehalt der verwendeten Bleisilikate.

Bleigehalt der einfachen Silikate.

	Zur Darstellung der Silikate dienten	Berechneter Gehalt an Blei %	Gefundener Gehalt an Blei %	Berechneter Gehalt an Bleioxyd %	Gefundener Gehalt an Bleioxyd %
I	1 Mol PbO 1 „ SiO_2	73,00	1) 71,0 2) 71,0 } 71,0	78,68	76,5
II	1 Mol PbO 2 „ SiO_2	60,20	58,6	64,87	63,1
III	1 Mol PbO 3 „ SiO_2	51,20	1) 49,02 2) 47,37 } 48,2	55,10	51,9
IV	1 Mol PbO 4 „ SiO_2	44,55	1) 42,5 2) 43,1 } 42,8	47,91	46,1

Bleigehalt der boraxhaltigen Silikate.

	Zur Darstellung der Silikate dienten	Berechneter Gehalt an Blei %	Gefundener Gehalt an Blei %	Berechneter Gehalt an Bleioxyd %	Gefundener Gehalt an Bleioxyd %
I	1 Mol PbO 1 „ SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	69,52	1) 67,6 2) 67,7 } 67,7	74,9	72,9
II	1 Mol PbO 2 „ SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	57,28	1) 54,6 2) 55,5 } 55,1	61,71	59,5
III	1 Mol PbO 3 „ SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	48,76	1) 48,6 2) 47,6 } 48,1	52,50	51,8
IV	1 Mol PbO 4 „ SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	42,42	1) 41,3 2) 42,0 } 41,6	45,65	44,8
V	1 Mol PbO 5 „ SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	37,55	1) 35,5 2) 36,4 } 36,0	40,45	38,7

Bleigehalt der borsäurehaltigen Silikate.

	Zur Darstellung der Silikate dienten	Berechneter Gehalt an Blei %	Gefundener Gehalt an Blei %	Berechneter Gehalt an Bleioxyd %	Gefundener Gehalt an Bleioxyd %
I	1 Mol PbO 1 „ SiO_2 + 5 % B_2O_3	69,52	1) 68,1 2) 70,2 3) 69,09 } 69,1	74,9	74,5
II	1 Mol PbO 2 „ SiO_2 + 5 % B_2O_3	57,28	1) 58,3 2) 57,3 } 57,8	61,71	62,4
III	1 Mol PbO 3 „ SiO_2 + 5 % B_2O_3	48,76	1) 48,4 2) 49,1 } 48,7	52,50	52,5

Bleigehalt der kalkhaltigen Silikate.

	Zur Darstellung der Silikate dienten	Berechneter Gehalt an Blei %	Gefundener Gehalt an Blei %	Berechneter Gehalt an Bleioxyd %	Gefundener Gehalt an Bleioxyd %
I	1 Mol PbO 1 „ SiO_2 + 5 % CaO	69,52	1) 67,9 2) 68,2 } 68,1	74,9	73,4
II	1 Mol PbO 2 „ SiO_2 + 5 % CaO	57,28	1) 57,0 2) 56,2 } 56,6	61,71	61,0
III	1 Mol PbO 3 „ SiO_2 + 5 % CaO	48,76	1) 48,1 2) 48,9 } 48,5	52,50	52,4

Bleigehalt der tonerdehaltigen Silikate.

	Zur Darstellung der Silikate dienten	Berechneter Gehalt an Blei %	Gefundener Gehalt an Blei %	Berechneter Gehalt an Bleioxyd %	Gefundener Gehalt an Bleioxyd %
I	1 Mol PbO 1 „ SiO_2 + 5 % Al_2O_3	69,52	1) 67,1 2) 67,8 } 67,5	74,9	72,8
II	1 Mol PbO 2 „ SiO_2 + 5 % Al_2O_3	57,28	1) 55,7 2) 55,9 } 55,8	61,71	60,2
III	1 Mol PbO 3 „ SiO_2 + 5 % Al_2O_3	48,76	1) 47,2 2) 47,01 } 47,1	52,50	50,8
IV	1 Mol PbO 1 „ SiO_2 + 2,5 % Al_2O_3	71,25	1) 69,0 2) 69,6 } 69,3	76,80	74,7
V	1 Mol PbO 2 „ SiO_2 + 2,5 % Al_2O_3	58,73	1) 56,8 2) 58,0 } 57,4	63,27	61,8
VI	1 Mol PbO 3 „ SiO_2 + 2,5 % Al_2O_3	50,00	1) 50,0 2) 49,6 } 49,8	53,80	53,6

Aus den Untersuchungsergebnissen ist zu schließen, daß bei der Herstellung der Bleiglasuren ein geringer Verlust von Blei durch Verdampfen des Bleioxyds ent-

steht. Thomason[1]) weist auf die Eigenschaft der fertigen Bleiglasuren hin, bei hoher Temperatur Bleioxyd abgeben zu können, auf welche Erscheinung später noch näher eingegangen werden soll.

2. Das Untersuchungsverfahren.

Als Säuren zur Prüfung der Bleiabgabe der Glasuren dienten 4%ige Essigsäure und 1%ige Salpetersäure. Erstere wurde in Anlehnung an die Vorschriften des Blei-Zink-Gesetzes gewählt, letztere um einen Vergleich zu dem Verhalten der Glasuren gegenüber einer starken Mineralsäure zu haben. Von der Verwendung einer verdünnten Salzsäure, etwa entsprechend dem Vorgehen von Thorpe einer 0,25%- bezw. 0,05%igen wurde abgesehen, da man bei deren Verwendung bei der Ausführung von derartigen Löslichkeitsversuchen auf die Wahl von kleinen Glasurmengen beschränkt ist. Thorpe[2]) hat darauf hingewiesen, daß bei einem ungünstigen Mengenverhältnis von Säure und Glasurmasse, d. h. bei zu geringem Säuregehalt, leicht durch das nachträgliche Ausscheiden von schwer löslichem basischen Bleichlorid aus der Lösung Täuschungen hervorgerufen werden können. Namentlich bei leichtlöslichen Bleiverbindungen ist das zu befürchten. So zeigte beispielsweise Thorpe, daß beim Behandeln von Bleioxyd und Bleiweiß, zwei an und für sich in verdünnten Säuren leicht löslichen Bleiverbindungen, mit ungenügenden Mengen von Salzsäure nur Spuren von Blei in der Lösung vorgefunden wurden, und er benutzte deswegen bei seinen Versuchen 0,1 g Glasur und die 1000fache Menge, d. s. 100 ccm 0,25%- und 0,05%ige Salzsäure sowie 0,05%ige Essigsäure. Bei der Verwendung der oben genannten stärker konzentrierten Säuren ist man in der Wahl der Glasurmengen nicht so eng begrenzt.

Die Ausführung eines Versuches gestaltete sich folgendermaßen. 2 g des fein gepulverten Bleisilikates auf der Tarierwage abgewogen, werden mit 100 ccm 4%iger Essigsäure oder 1%iger Salpetersäure in einem durch einen Gummistopfen verschlossenen Erlenmeyer-Kölbchen von etwa 250 ccm Inhalt zwei oder vier Stunden lang in einem Thermostaten bei einer Temperatur von 25° geschüttelt. Hierauf wird von dem ungelösten Anteil abfiltriert und in dem Filtrat die Bleimenge nach einem Verfahren, das dem von Diehl[3]) beschriebenen und auch von Sackur[4]) angewandten ähnlich ist, wie folgt ermittelt. In einem mittels einer geeichten Pipette entnommenen Teil des Filtrates (20 bis 40 ccm) wird das Blei durch Hinzufügen einer gemessenen Menge Kaliumbichromatlösung, welche durch Auflösen von 0,7117 g[5]) reinem Kaliumbichromat (durch mehrfaches Umkristallisieren und Trocknen bei 180° gereinigt) in 1 Liter destilliertem Wasser hergestellt wird, und von der 1 ccm somit 1 mg metallischem Blei entspricht, in der Form von Bleichromat gefällt. Werden die Löslichkeitsversuche mit Salpetersäure angestellt, so muß vorher ein Zusatz von 2 g Natriumacetat erfolgen. Nach Verlauf von etwa 10 Minuten wird unter Verwendung eines Goochschen Tiegels oder einer ähnlichen Vorrichtung der Niederschlag durch

---

[1]) Journal of the Soc. of Chem. Ind. Bd. 23, S. 470–475. Chem. Zentralblatt 1904, S. 619.
[2]) Report 1889, S. 33.
[3]) Ztschr. f. anal. Ch. Bd. 19 (1880), S. 306.
[4]) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 22 (1905), S. 207.
[5]) Auf Grund der neuen Atomgewichte würde eine Menge von 0,7108 g anzuwenden sein.

Absaugen von der Lösung getrennt und ausgewaschen. Das Filtrat muß durch im Überschuß vorhandenes Kaliumbichromat gelb gefärbt sein, andernfalls ist ein weiterer Zusatz von Kaliumbichromatlösung erforderlich und hierauf das Absaugen zu wiederholen. In dem Filtrat wird der Überschuß von Kaliumbichromat nach dem folgenden jodometrischen Verfahren ermittelt. Zu dem Filtrat werden 5 ccm einer 10%igen Jodkaliumlösung und 10 ccm einer 20%igen Schwefelsäure hinzugefügt; nach etwa 5 Minuten wird das ausgeschiedene Jod mittels einer Natriumthiosulfatlösung titriert. Die Natriumthiosulfatlösung wird so hergestellt, daß 1 ccm derselben 1 ccm der Kaliumbichromatlösung entspricht, was dadurch erreicht wird, daß man 3,7 g Natriumthiosulfat (Wassergehalt 5 Moleküle) in 1 Liter Wasser löst und die so erhaltene Lösung gegen die verwendete Bichromatlösung mittels Jodkalium genau einstellt. Aus der Differenz der Mengen der für die Fällung zugesetzten Kaliumbichromatlösung und der verbrauchten Natriumthiosulfatlösung erhält man nach Umrechnen auf 100 ccm Lösung die Menge Blei, ausgedrückt in mg metallischem Blei, welche bei dem Versuch aus 2 g Glasurmasse herausgelöst wird.

Nach diesem Verfahren läßt sich, vorausgesetzt daß kein Baryum vorhanden ist, in kurzer Zeit die Bestimmung des gelösten Bleis mit der hinreichenden Genauigkeit ausführen, wie bereits von Sackur festgestellt wurde und auch aus den unten angeführten Analysenergebnissen (Tab. A und B) zu entnehmen ist. Namentlich mußte das Verfahren noch daraufhin geprüft werden, ob auch bei Gegenwart von Salpetersäure die jodometrische Bestimmung des Bichromats einwandfrei ist. Zu dem letzteren Zweck erfolgte zu dem mit der Schwefelsäure angesäuerten Filtrat ein Zusatz von jeweils 1 g Natriumnitrat.

Wie später gezeigt wird, läßt sich das Verfahren in etwas abgeänderter Form auch zur genauen Ermittelung sehr kleiner Bleimengen (unter 1 mg) bei nicht zu großen Mengen Lösungsmittel verwenden.

Tabelle A.

Angewandte Menge Blei [1]) mg	Gefundene Menge Blei mg
53,6	53,9
26,8	27,1
13,4	13,6

Tabelle B (bei Gegenwart von Salpetersäure).

Angewandte Menge Blei mg	Gefundene Menge Blei mg
53,6	54,1
53,6	54,0
26,8	26,7

Durch die Anwesenheit von Salpetersäure können bei der Bestimmung des Bichromats auf jodometrischem Wege leicht bedeutende Fehler dadurch verursacht werden, daß die verdünnte Salpetersäure mit Jodion unter Umständen in erheblichem Maße unter Abscheidung von Jod reagiert. Wie aus den angeführten Beleganalysen hervorgeht, kommt dieser Vorgang bei der kurzen Dauer der Analyse im allgemeinen nicht in Betracht. Jedoch kann die Reaktion zwischen der verdünnten Salpetersäure und der Jodion enthaltenden Lösung durch Katalysatoren so beschleunigt werden,

[1]) Durch Auflösen von reinem Bleioxyd in verdünnter Salzsäure wurde eine Lösung mit bekanntem Bleigehalt hergestellt und von dieser eine bestimmte Menge gewonnen.

daß das maßanalytische Verfahren zu falschen Ergebnissen führt. Einen derartigen katalytischen Einfluß üben, wie beobachtet werden konnte, besonders auch Eisensalze aus, und da die Gegenwart des Eisens bei Versuchen, die mit in ihrer Zusammensetzung unbekannten Glasuren angestellt werden, leicht unbemerkt bleiben kann, so ist in dieser Hinsicht bei der jodometrischen Bestimmung des Bleis durch Chromat bei Verwendung von Salpetersäure als Lösungsmittel Vorsicht geboten. In einem solchen Falle empfiehlt es sich, das ursprünglich gefällte Bleichromat auf einem Filter zu sammeln und die Bleimenge durch direkte Wägung des Niederschlags oder durch die Bestimmung des dem Blei äquivalenten Chromatgehaltes der durch Auflösen des Niederschlages in Salzsäure erhaltenen Lösung zu ermitteln.

3. Die Versuchsergebnisse.

a) Das Verhalten der Bleiglasuren gegen 1%ige Salpetersäure und 4%ige Essigsäure.

Um zu sehen, ob die Angreifbarkeit der bleihaltigen Glasuren wesentlich durch die Art der als Lösungsmittel verwendeten Säure beeinflußt werde, wurden die einfachen Bleisilikate sowie die 5 % Borax, $2^1/_2$ % und 5 % Tonerde enthaltenden Bleisilikate 2 Stunden lang unter den angeführten Bedingungen das eine Mal mit 4%iger Essigsäure, das andere Mal mit 1%iger Salpetersäure geschüttelt.

Da 100 ccm 4%ige Essigsäure 6893 mg Blei, 100 ccm 1%ige Salpetersäure 1641 mg Blei zu lösen vermögen, die bei den Versuchen angewandten Proben von 2 g aber im Höchstfalle 1420 mg Blei enthielten, so war stets ein genügender Überschuß von Säure zugegen.

Abgabe von Blei seitens der einfachen Bleisilikate an 4%ige Essigsäure und 1%ige Salpetersäure.

	Gewicht der in der Probe von 2 g enthaltenen Mengen		In 4%iger Essigsäure wurden gelöst				In 1%iger Salpetersäure wurden gelöst			
	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %
I	1420	1529	1405	1513	98,9 [70,3] [1])	98,9 [75,7]	1416	1525	99,7 [70,8]	99,7 [76,3]
II	1146	1232	1) 90,4 2) 91,6 3) 106,0 4) 95,0 } 96,0	103,4	8,4 [4,8]	8,4 [5,2]	1) 102,0 2) 98,4 3) 95,0 } 98,4	106,0	8,6 [4,9]	8,6 [5,3]
III	964	1038	1) 17,0 2) 20,0 3) 18,6 } 18,5	19,9	1,9 [0,9]	1,9 [1,0]	1) 18,0 2) 19,2 3) 17,0 } 18,1	19,5	1,9 [0,9]	1,9 [1,0]
IV	856	921,9	1) 16,0 2) 18,2 3) 17,7 } 17,3	18,6	2,0 [0,9]	2,0 [0,9]	1) 17,8 2) 18,6 } 18,2	19,6	2,1 [0,9]	2,1 [1,0]

[1]) Die Zahlen in [ ] bezeichnen die Prozente der ganzen angewandten Glasurprobe, die darüber stehenden Zahlen des überhaupt vorhandenen Bleis bezw. Bleioxyds.

Abgabe von Blei seitens der boraxhaltigen Bleisilikate an 4%ige Essigsäure und 1%ige Salpetersäure.

($Na_2B_4O_7$-Gehalt = 5 %).

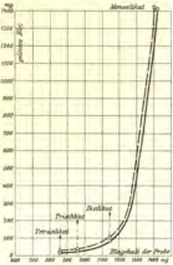
	Gewicht der in der Probe von 2 g enthaltenen Mengen		In 4%iger Essigsäure wurden gelöst				In 4%iger Salpetersäure wurden gelöst			
	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %
I	1354	1458	1360	1464	100 [68,0]	100 [73,2]	1355	1460	100 [67,8]	100 [73,1]
II	1102	1187	1) 489 2) 459 } 474	510,5	43,0 [23,7]	43,0 [25,5]	1) 589 2) 598 } 594	639,7	53,9 [29,7]	53,9 [32,0]
III	963	1037	1) 39,5 2) 38,6 } 39,1	42,1	4,1 [2,0]	4,1 [2,1]	38,0	40,9	3,9 [1,9]	3,9 [2,0]
IV	833	897	1) 14,8 2) 14,4 } 14,6	15,7	1,8 [0,7]	1,8 [0,8]	1) 16,0 2) 16,4 } 16,2	17,4	1,9 [0,8]	1,9 [0,9]
V	718	774	1) 14,4 2) 13,9 } 14,2	15,3	2,0 [0,7]	2,0 [0,8]	1) 14,0 2) 12,0 } 13,0	14,0	1,8 [0,6]	1,8 [0,7]

Abgabe von Blei seitens der tonerdehaltigen Bleisilikate an 4%ige Essigsäure und 1%ige Salpetersäure.

A. Tonerdegehalt = 2,5 %.

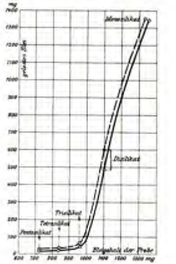
	Gewicht der in der Probe von 2 g enthaltenen Mengen		In 4% iger Essigsäure wurden gelöst				In 1%iger Salpetersäure wurden gelöst			
	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei mg	Blei. oxyd mg	Blei %	Bleioxyd %	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %
I	1386	1492	1360	1465	98,1 [68,0]	98,1 [73,3]	1370	1476	98,8 [68,5]	98,8 [73,8]
II	1148	1236	1) 41,6 2) 42,4 } 42,0	45,2	3,7 [2,1]	3,7 [2,3]	1) 41,3 2) 39,6 } 40,5	43,6	3,5 [2,0]	3,5 [2,2]
III	996	1072	1) 14,4 2) 13,2 } 13,8	14,9	1,4 [0,7]	1,4 [0,8]	1) 12,9 2) 14,4 3) 14,0 } 13,8	14,9	1,4 [0,7]	1,4 [0,8]
	B. Tonerdegehalt = 5 %.									
I	1352	1456	1345	1439	99,5 [67,2]	99,5 [72,0]	1340	1434	99,1 [67,0]	99,1 [71,7]
II	1116	1202	1) 39,4 2) 41,3 3) 37,5 } 39,4	42,4	3,5 [2,0]	3,5 [2,1]	1) 41,6 2) 40,8 } 41,2	44,4	3,7 [2,1]	3,7 [2,2]
III	942	1008	1) 10,9 2) 11,7 } 11,3	12,2	1,2 [0,6]	1,2 [0,6]	1) 11,0 2) 11,0 } 11,0	11,8	1,2 [0,6]	1,2 [0,6]

Fig. 1. **Einfache Silikate.**



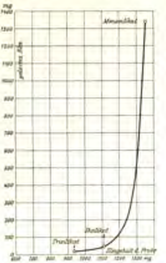
——— Bleiabgabe an 4 %ige Essigsäure.

Fig. 2. **Silikate + 5 % Borax** ($Na_2B_4O_7$).



– – – – Bleiabgabe an 1 %ige Salpetersäure.

Fig. 3. **Tonerdehaltige Silikate.**



Die Werte für die Bleiabgabe der 2½ % und 5 % Tonerde enthaltenden Silikate an 4 %ige Essigsäure und 1 %ige Salpetersäure sind nahezu einander gleich.

In den vorstehenden Tabellen sind die Ergebnisse der Versuche zusammengestellt. Die in Betracht kommenden Werte sind daselbst sowohl auf Blei als auch auf Bleioxyd berechnet. Die prozentischen Mengen von gelöstem Blei sind sowohl auf die in der Glasur vorhandenen Bleimengen wie auch auf die angewandte Glasurmenge [ ] bezogen. Statt der Bezeichnungen Mono-, Di-, Tri- usw. Silikat sind die römischen Ziffern I, II, III usw. der Kürze halber gewählt.

Stellt man diese Ergebnisse graphisch dar in der Weise, daß man in einem Koordinatensystem als Ordinate die gelöste Menge Blei, als Abszisse den Bleigehalt des Silikates aufträgt, so erhält man die Figuren 1, 2 und 3.

Der Verlauf der Kurven, welche sich auf die Löslichkeit in der 4 %igen Essigsäure und der 1 %igen Salpetersäure beziehen, ist ein sehr ähnlicher, und es darf hieraus geschlossen werden, daß die Art der Säure in den angewandten Grenzen nicht von wesentlichem Ein-

Digitized by Google

fluß auf die Löslichkeit der Bleisilikate ist. Hervorgehoben mag ferner der starke Abfall in der Bleiabgabe der Anfangsglieder der untersuchten Reihen werden.

b) Der Einfluß der Versuchsdauer auf die Bleiabgabe der Glasuren.

Um aus dem Einfluß der Versuchsdauer einen Schluß auf die Eigenart des Lösungsvorganges ziehen zu können, wurden nach zwei Richtungen Versuche angestellt. Das eine Mal wurden die nach 2- und 4stündigem Schütteln an die 1%ige Salpetersäure abgegebenen Bleimengen miteinander verglichen, ein anderes Mal wurden die Bleimengen ermittelt, welche bei dem zweimaligen, aufeinanderfolgenden je 2stündigen Schütteln ein und derselben Probe von jeweils frischer Säure gelöst wurden.

Die Ergebnisse des ersten Verfahrens sind die folgenden.

Abgabe von Blei seitens der einfachen Bleisilikate an 1%ige Salpetersäure in 2 und 4 Stunden.

	1%ige Salpetersäure löst			
	in 2 Stunden		in 4 Stunden	
	Blei mg	Blei %	Blei mg	Blei %
I	1416	99,7	1411	99,4
II	94,5	8,2	126	11,0
III	17,0	1,8	22	2,3
IV	17,8	2,1	21	2,5

Abgabe von Blei seitens der boraxhaltigen Bleisilikate an 1%ige Salpetersäure in 2 und 4 Stunden.

($Na_2B_4O_7$-Gehalt = 5%).

	1%ige Salpetersäure löst			
	in 2 Stunden		in 4 Stunden	
	Blei mg	Blei %	Blei mg	Blei %
I	1355	100	1357	100
II	594	53,9	693	62,9
III	38	4,0	50	5,2
IV	16	1,9	18	2,2
V	14	2,0	16	2,2

Abgabe von Blei seitens der tonerdehaltigen Bleisilikate an 1%ige Salpetersäure in 2 und 4 Stunden.

Angewandte Silikate	1%ige Salpetersäure löst			
	in 2 Stunden		in 4 Stunden	
	Blei mg	Blei %	Blei mg	Blei %
Disilikat + 2,5 % Al_2O_3	40,5	3,5	44,5	3,8
Disilikat + 5 % Al_2O_3	41,2	3,7	43,9	3,9
Trisilikat + 2,5 % Al_2O_3	13,8	1,4	14,6	1,5
Trisilikat + 5 % Al_2O_3	11,0	1,2	12,2	1,3

Die Versuche nach dem zweiten erwähnten Verfahren wurden in der folgenden Weise ausgeführt. Die nach dem zweistündigen Schütteln der einzelnen Proben ungelösten Rückstände wurden auf einem Filter gesammelt, zweimal mit der entsprechenden Säure ausgewaschen und hierauf nochmals mit frischer Säure zwei Stunden lang geschüttelt.

Bleiabgabe derselben Probe bei zwei aufeinander folgenden Löslichkeitsversuchen mit 4%iger Essigsäure und 1%iger Salpetersäure.

Angewandte Silikate	In 4%iger Essigsäure oder 1%iger Salpetersäure wurden in 2 Stunden gelöst: beim 1. Schütteln		beim 2. Schütteln	
	Blei mg	Blei %	Blei mg	Blei %
1 Mol PbO 2 Mol SiO_2	1) 107 2) 106	9,8 9,3	5,6 5,0	0,5 0,45
1 Mol PbO 3 Mol SiO_2	20	2,1	5,5	0,6
1 Mol PbO 2 Mol SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	489	44,4	111	10,0
1 Mol PbO 3 Mol SiO_2 + 5 % $Na_2B_4O_7$	64	6,6	3,6	0,4
1 Mol PbO 2 Mol SiO_2 + 2,5 % Al_2O_3	40,5	3,5	15,8	1,3
1 Mol PbO 3 Mol SiO_2 + 2,5 % Al_2O_3	13,8	1,4	3,0	0,3
1 Mol PbO 2 Mol SiO_2 + 5 % Al_2O_3	41,2	3,7	7,5	0,6
1 Mol PbO 3 Mol SiO_2 + 5 % Al_2O_3	11,0	1,2	1,8	0,2

Es strebt demnach der Lösungsvorgang einem Endzustande entgegen, der nach zwei Stunden praktisch erreicht ist, sodaß die Bleiabgabe einer Glasur, welche nach dem zweistündigen Schütteln mit einer der genannten Säure beobachtet wird, als Maßstab für die Widerstandsfähigkeit der Glasur gelten kann. Wie namentlich aus den an zweiter Stelle ausgeführten Versuchen hervorgeht, wobei die bei der zweiten Behandlung der Silikate mit Säure gelösten Bleimengen nur noch sehr gering im Vergleich zu der ersten Behandlung waren, ist der Endzustand nicht etwa durch das Eintreten eines wirklichen chemischen Gleichgewichtes bedingt. Wie später noch ausführlich beschrieben wird, beruht er darauf, daß die Bleiglasuren keine einheitlichen Stoffe sind, vielmehr ein Gemisch von verschiedenen Bleiverbindungen vorstellen, welche je nach dem Grade der unter den angewandten Bedingungen erfolgenden Aufschließung als leicht oder schwer lösliche Verbindungen bezeichnet werden können.

c) Verhalten der borsäure- und kalkhaltigen Bleisilikate gegen 4%ige Essigsäure, sowie der Einfluß der verschiedenen Zusätze.

Um ein vollständigeres Bild von dem Einfluß der verschiedenen Zusätze auf die Bleiabgabe der Glasuren zu erhalten, wurden noch Versuche mit den 5 % Borsäure

sowie 2½ % und 5 % Kalk enthaltenden Bleisilikaten angestellt. Auf Grund der vorangegangenen Versuche wurden die Proben mit der 4%igen Essigsäure allein geprüft und die Untersuchung auf die drei ersten Glieder der Reihe beschränkt.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen und in den graphischen Darstellungen der Figuren 4 und 5 zusammengefaßt.

Bleiabgabe der 5 % Borsäure enthaltenden Bleisilikate an die 4%ige Essigsäure.

	Gewicht der in der Probe von 2g enthaltenen Mengen		In 4%iger Essigsäure wurden gelöst			
	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %
I	1381	1487	1351	1455	97,8 [67,5]	97,8 [72,7]
II	1146	1234	1) 379 2) 414 } 396,5	427	34,6 [19,8]	34,6 [21,4]
III	968	1043	1) 64,0 2) 57,6 3) 60,0 } 60,5	65,2	6,2 [3,0]	6,2 [3,3]

Bleiabgabe der 2½ % Kalk enthaltenden Bleisilikate an die 4%ige Essigsäure.

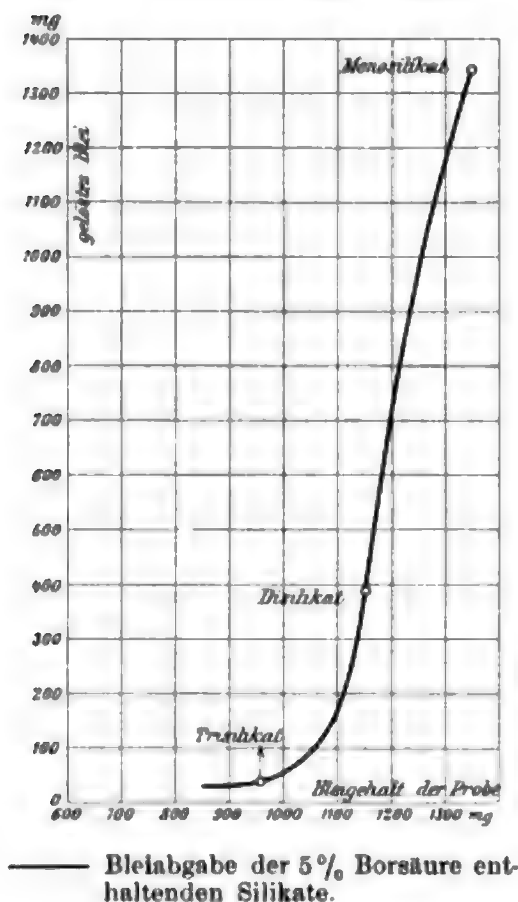
	Gewicht der in der Probe von 2g enthaltenen Mengen		Von der 4%igen Essigsäure wurden gelöst			
	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %
I	1425	1535	1338	1432	93,9 [66,9]	93,9 [71,6]
II	1185	1268	1) 222 2) 221,3 } 221,6	238,7	18,6 [11,1]	18,6 [11,9]
III	999	1069	19,0	20,0	1,9 [0,9]	1,9 [1,0]

Bleiabgabe der 5% Kalk enthaltenden Bleisilikate an die 4%ige Essigsäure.

	Gewicht der in der Probe von 2g enthaltenen Mengen		Von der 4%igen Essigsäure wurden gelöst			
	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei mg	Bleioxyd mg	Blei %	Bleioxyd %
I	1364	1469	1348	1452	98,8 [67,4]	98,8 [72,6]
II	1140	1228	1) 360 2) 365 } 362,5	400,4	31,8 [18,1]	31,8 [20,0]
III	970	1045	19,6	21,1	2,0 [1,0]	2,0 [1,0]

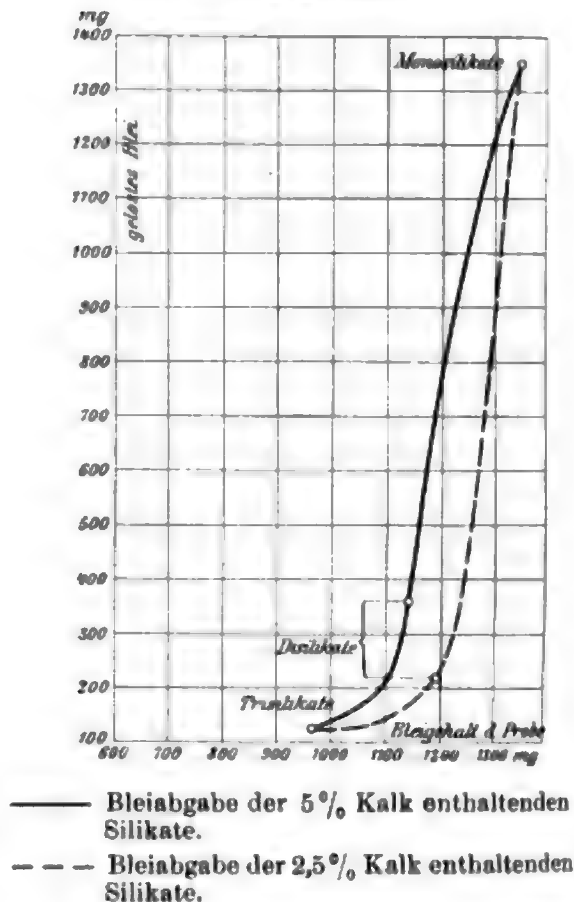
Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich über die Bleiabgabe der Glasuren folgendes. Die sämtlichen Monosilikate sind als leicht löslich in den angewandten verdünnten Säuren zu bezeichnen. Mit der Erhöhung des Kieselsäuregehaltes fällt die Bleiabgabe der Bleisilikate schnell, sodaß sie bei dem einfachen Disilikat bereits einen verhältnismäßig geringen Betrag angenommen hat, um später noch weiter herabzusinken. Jedoch verschwindet die Bleiabgabe selbst bei hohem Kieselsäuregehalt nicht vollständig, vielmehr weisen die höheren Silikate einen zwar sehr niedrigen aber ziemlich konstanten Wert für die Bleiabgabe auf. Der Grund hierfür mag später näher erörtert werden.

Fig. 4. **Borsäurehaltige Silikate.**



——— Bleiabgabe der 5 % Borsäure enthaltenden Silikate.

Fig. 5. **Kalkhaltige Silikate.**



——— Bleiabgabe der 5 % Kalk enthaltenden Silikate.

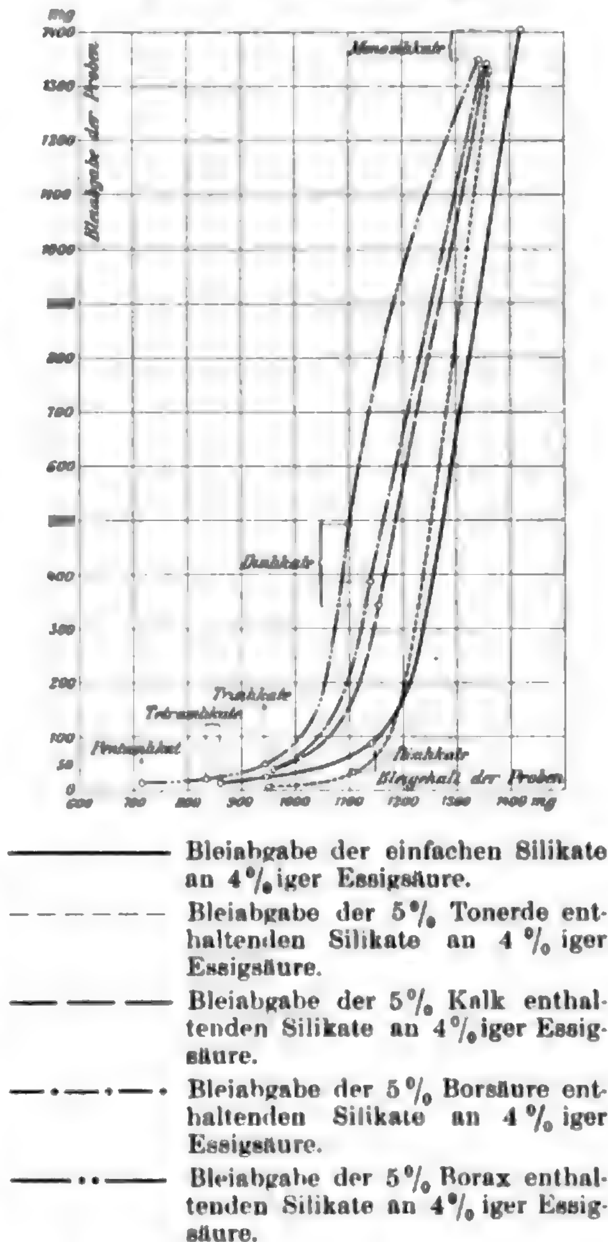
– – – Bleiabgabe der 2,5 % Kalk enthaltenden Silikate.

Die angewandten Zusätze sind, wie auch aus dem folgenden Diagramm (Fig. 6) entnommen werden kann, von verschiedenem Einfluß. Gegenüber den einfachen Bleisilikaten wird die Bleiabgabe durch einen Zusatz von Borax, Borsäure und Kalk erhöht, durch einen Zusatz von Tonerde erniedrigt. Wie man sich bei der Herstellung der Glasuren leicht überzeugen kann, macht ein Zusatz von Borsäure und Borax die Glasuren leichtflüssiger, während ein solcher von Tonerde und Kalk die entgegengesetzte Wirkung hervorruft, und die später angeführten Versuche über die Schmelzerscheinungen der Bleisilikate bestätigen diese Beobachtung. Auf die Tatsache, daß Schmelzbarkeit und Bleiabgabe der Glasuren durch die verschiedenen Zusätze nicht in stets gleichem Sinne beeinflußt werden, mag auch an dieser Stelle hingewiesen sein.

4. Allgemeine Schlußfolgerungen.

Die Ergebnisse der vorstehend beschriebenen Versuche stimmen in mehreren wichtigen Beziehungen, welche besonders auch für die gesundheitliche Beurteilung der bleihaltigen Glasuren von Bedeutung sind, wie dem Grade der Bleiabgabe der Glasuren sowie dem eigenartigen Verlauf des Lösungsvorganges, mit denjenigen überein, welche Thorpe bei der Untersuchung einer großen Zahl von Glasuren, die in keramischen Betrieben praktische Verwendung finden, hat feststellen können, und einige Fragen allgemeiner Natur, welche zum Teil bereits durch die Arbeiten von Thorpe angeregt worden sind, mögen zunächst besprochen werden.

Fig. 6. **Zusammenstellung.**



Greifenhagen[1]) berichtet über Versuche mit Bleisilikaten, die der Schilderung nach mit den vorstehend beschriebenen einfachen Silikaten übereinstimmen sollten. Die Ergebnisse sind jedoch andere als die hier gefundenen. Die Bedingungen, welche bei den Versuchen Greifenhagens vorgelegen haben, bedürfen indessen noch der Klärung, denn abgesehen davon, daß die Säure in unzureichender Menge verwendet wurde, gingen im besondern beim Schütteln mit 0,05%iger Salzsäure nach den Versuchsergebnissen bei weitem größere Mengen Blei in Lösung, als der angewandten Menge Säure überhaupt entsprechen. Die Löslichkeitsversuche wurden unter Verwendung von 2 bis $2^1/_2$ g der gemahlenen Fritte und jeweils 100 ccm Säure vorgenommen. 100 ccm 0,05%ige Salzsäure vermögen im Höchstfalle 0,152 g Bleioxyd in Bleichlorid überzuführen. Nach den Ergebnissen der Versuche wurden jedoch gelöst: aus dem Monosilikat 0,3854 g, dem Disilikat 0,2236 g, dem Trisilikat 0,217 g, dem Tetrasilikat 0,1944 g, und aus dem Pentasilikat 0,2085 g Bleioxyd. Greifenhagen schließt aus den Ergebnissen, daß in den höheren Silikaten Gemische der verschiedenen niedrigeren Silikate vorliegen. Doch muß für die Erklärung des obigen Widerspruchs dahingestellt

[1]) Sonderbeilage zum Bericht über die 29. Hauptversammlung des Verbandes keramischer Gewerbe 1906, S. 6.

bleiben, ob diese hohen Werte etwa durch die Gegenwart von wasserlöslichen Bleiverbindungen verursacht worden sind.

Über die Natur der in den Glasuren enthaltenen Bleiverbindungen lassen sich aus der Eigenart des Lösungsvorganges Schlüsse ableiten. Die Abgabe von Blei seitens der Glasuren findet leicht statt und führt bald zu einem Punkt, von welchem an eine weitere wesentliche Abgabe von Blei an die verwendeten Säuren nicht mehr erfolgt. In bezug auf die Menge Blei, welche hierbei gelöst wird, sind die Stärke und die Natur der Säure, wenigstens innerhalb verhältnismäßig weiter Grenzen, von keiner wesentlichen Bedeutung. Bereits früher ist auf die große Übereinstimmung der Bleiabgabe der einfachen, der Borax- und der Tonerde-haltigen Silikate an 4%ige Essigsäure und 1%ige Salpetersäure hingewiesen worden. Thorpe[1]) fand, daß in gleichen Zeiten (nach einer Stunde) von 0,25%iger und 0,05%iger Salzsäure ungefähr die gleichen Mengen Blei aus denselben Glasuren gelöst wurden, z. B. von 0,25%iger Salzsäure: 1. 70 mg, 2. 67 mg, 3. 17,2 mg, 4. 15,1 mg, 5. 1,7 mg, 6. 0,6 mg, 7. 1,2 mg, von 0,05%iger Salzsäure: 1. 62,5 mg, 2. 61,9 mg, 3. 15,1 mg, 4. 14 mg, 5. 1,4 mg, 6. 0,6 mg, 7. 1,1 mg. Bei einigen von Rasch[2]) ausgeführten Versuchen über die Löslichkeit der Glasuren, bei denen der Unterschied in den verwendeten Lösungsmitteln noch auffallender ist, läßt sich ein ähnliches Verhalten der Glasuren betreffend die Abgabe von Blei erkennen.

Prozente Blei, löslich bei ½stündigem Kochen in

25%iger Salpetersäure	4%iger Essigsäure
1,14	0,69
1,62	1,24
1,96	1,16
1,32	1,04
0,48	0,43
1,25	1,37
1,19	1,16
12,35	7,36
1,52	1,32
6,96	3,36

Auf Grund dieser Ergebnisse und des bereits erwähnten von Thorpe erbrachten Nachweises der Nichteinheitlichkeit der bleihaltigen Glasuren gibt die folgende Auffassung eine ungezwungene Erklärung für die Bleiabgabe der Glasuren sowie für den Lösungsvorgang.

Die Glasuren stellen keine einheitlichen chemischen Verbindungen dar, und die in ihnen vorkommenden Bleiverbindungen unterscheiden sich voneinander durch den verschiedenen Grad ihrer Löslichkeit (Aufschließbarkeit) in den verwendeten Säuren. Bei der Einwirkung der letzteren werden die leicht löslichen Bleiverbindungen der Glasur entzogen, und es verbleibt hiernach eine im praktischen Sinne unlösliche

[1]) Report 1899, S. 28, 29 und 31.

[2]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 14 (1898), S. 85.

Glasur, in der das Blei als Bestandteil von sehr widerstandsfähigen Verbindungen enthalten ist. Ein wenn auch nicht wesentlicher Vorbehalt muß hierbei jedoch gemacht werden. Bei der Einwirkung von wässerigen Säuren auf die gepulverten Glasuren handelt es sich um eine chemische Reaktion zwischen Stoffen, welche sich in zwei verschiedenartigen Phasen, einer flüssigen und einer festen, befinden, sodaß die auf der Diffusion beruhenden Erscheinungen nicht vollkommen auszuschließen sind. Hierdurch kann beispielsweise ein Teil der leichtlöslichen Bleiverbindungen, welche in den inneren Schichten des Kornes sich befinden, der Einwirkung der Säure dadurch entzogen werden, daß die Säure in der für den Versuch angesetzten Zeit nicht alle Schichten des Kornes durchdringt. Dieses ist auch tatsächlich zu beobachten und findet einen Ausdruck z. B. darin, daß der Feinheitsgrad der Glasurpulver wenn auch nicht von ausschlaggebender Bedeutung, so doch von Einfluß auf die Abgabe von Blei ist, wie die bereits erwähnten Versuchsergebnisse von Greifenhagen und Thorpe beweisen. Das Ergebnis eines von Thorpe angestellten Versuches über den Einfluß des Mahlens mag hier noch angeführt werden[1]). Gleiche Mengen von sechs verschiedenen Fritten, deren Bleiabgabe nach den früher erwähnten Verfahren zu 1,1 bis 3,2 % gefunden worden war, wurden in einer Handmühle 24 Stunden lang miteinander gemahlen. Die Bleiabgabe des so erhaltenen Pulvers, welches bezüglich des Feinheitsgrades durchaus dem Durchschnitt der in der Praxis zur Verwendung gelangenden gemahlenen Glasuren entsprach, belief sich auf 2,8 Prozent. Als dieses Pulver noch weitere 12 Stunden lang gemahlen und hierdurch in eine etwas übertrieben feine Form übergeführt wurde, betrug die Bleiabgabe 8,6 %.

Der Nachweis über diesen Einfluß der Oberfläche, der Feinheit des Kornes, ließ sich auch leicht in der folgenden Weise erbringen. Bei einem Löslichkeitsversuch, der mit einer Probe von 2 g des einfachen Disilikates angestellt wurde, gingen bei dem erstmaligen zweistündigen Schütteln mit 4%iger Essigsäure 107 mg Blei, bei dem zweitmaligen zweistündigen Schütteln 5,6 mg Blei in Lösung. Wurde jedoch die Probe vor dem zweiten Löslichkeitsversuche durch Behandeln mit Alkohol und Äther getrocknet und noch eine längere Zeit in einem Achatmörser fein gerieben, so wurden in zwei Stunden an die 4%ige Essigsäure 32 mg Blei abgegeben. Bei der Verwendung von einer Probe 1. des Borsäure-haltigen Trisilikates waren die entsprechenden Werte: 64 mg, 3,6 mg und 32 mg Blei, 2. des 5 % Tonerde enthaltenden Disilikates: 41,6 mg, 9 mg und 22,4 mg Blei.

Eine Erklärung für den Einfluß, den die Feinheit des Korns ausübt, sowie für die Eigenart des Lösungsvorganges bei den gepulverten Bleiglasuren wurde von Jackson und Rich[2]) im Gegensatz zu Thorpe darin gesucht, daß sich die einzelnen Körnchen mit einer unlöslichen Schicht von Kieselsäure überzögen, welche ein weiteres Auflösen der Glasur verhinderten. Beim Aufstellen dieser Hypothese gingen Jackson und Rick stillschweigend von der Annahme aus, daß die Bleiglasuren einheitliche Stoffe vorstellen, was jedoch nicht zutreffend ist. Besonders durch den letzteren Nach-

[1]) Report 1901, S. 37.

[2]) Manchester Memoirs, Bd. 45, I. Teil Nr. 2, sowie Report 1901, S. 33.

weis sowie auch durch eine Reihe anderer Versuche[1]), deren Aufzählung zu weit führen würde, hat Thorpe die Annahme einer schützenden Hülle von Kieselsäure entkräftet. Rein theoretisch betrachtet erscheint eine derartige Annahme auch aus dem Grunde nicht sehr wahrscheinlich, weil sie voraussetzt, daß das Bleisilikat zunächst als solches gelöst, hinterher aus der Lösung die Kieselsäure aber ausgeschieden wird und sich in der Form einer dichten zusammenhängenden Schicht auf den Glasurkörnchen niederschlägt. Nach dem oben Gesagten mag jedoch der Vorstellung einer schützenden Schicht beigetreten werden, sofern die in den inneren Schichten des Kornes befindlichen leichtlöslichen Bestandteile bis zu einem gewissen Grade durch die vorhandene Umkleidung aus schwer angreifbaren Bestandteilen gegen die Einwirkung der Säure geschützt werden.

Was die Natur der in den Glasuren vorhandenen Verbindungen anbelangt, so ist aus deren Verhalten gegenüber der Einwirkung der Säure zu schließen, daß die Hauptmasse der Glasur die Verbindung darstellt, deren Zusammensetzung sich aus den analytischen Daten ergibt. Schon daraus, daß die einzelnen Bestandteile nicht immer in einem stöchiometrischen Verhältnis in der Glasur vorkommen, ergibt sich, daß verschiedenartige Verbindungen darin nebeneinander bestehen können.

Falls die einzelnen Bestandteile bei der Herstellung der Glasur in solchen Mengen angewendet werden, daß die Voraussetzungen einer vollständigen und gleichmäßigen chemischen Bindung vorhanden sind, so können rein äußerliche Umstände dazu führen, daß die Glasur nicht in allen Teilen von gleicher Zusammensetzung ist. Der Umstand jedoch, daß der Betrag für die Bleiabgabe nur geringen Schwankungen unterliegt und namentlich bei den höheren Silikaten stets nahezu den gleichen niedrigen Wert annimmt, mag durch folgende Ursache veranlaßt sein.

Die beim Zusammenschmelzen der anhydrischen Base Bleioxyd und der anhydrischen Kieselsäure entstehende Verbindung ist im geschmolzenen Zustande nach dem bekannnten Vorbild anderer Verbindungen zum Teil in ihre Bestandteile gespalten. Wenn alsdann der Schmelzfluß glasartig erstarrt, so wird der Zustand fixiert, welcher bei der hohen Temperatur in der noch flüssigen Schmelze bestand, d. h. es sind in dem erstarrten Glas auch leichtlösliche Bleiverbindungen, wie z. B. Bleioxyd und Bleimonosilikat in einer dem Dissoziationsgrade bei der Erstarrungstemperatur entsprechenden Menge vorhanden. Einige Tatsachen sprechen für eine derartige thermolytische Dissoziation. Die Bleiglasuren geben nach den von Thomason[2]) angestellten Versuchen bei hoher Temperatur oder in geschmolzenem Zustande Bleioxyd in Dampfform ab, wobei aus der bleioxydhaltigen Atmosphäre seitens anderer bleiärmeren oder bleifreien Glasuren das Bleioxyd aufgenommen werden kann. Dies ist nur unter der Voraussetzung möglich, daß auch in der Schmelze freies Bleioxyd vorhanden ist.

Die Monosilikate sind deutlich gelblich gefärbt, und die Dilisikate besitzen meist einen noch merklichen gelben Stich. Beim Erhitzen auf hohe Temperaturen und

---

[1]) Report 1901, S. 33—38.

[2]) Journal of the Soc. of Chem. Inst. Bd. 23. S. 470—475. Chem. Centralblatt 1904. S. 619.

Verflüssigen der genannten Silikate vertieft sich der Farbton stärker, als man nach der ursprünglichen schwachen Färbung annehmen sollte, welche Erscheinung sehr für einen Gehalt an freiem Bleioxyd der Glasuren, sowie für die Abspaltung von weiterem Bleioxyd bei hohen Temperaturen spricht[1]).

Auch die folgenden Löslichkeitsversuche können als Zeichen für einen derartigen Zerfall angesehen werden.

Eine 2 g große Probe des einfachen Disilikates gab bei dem 2-stündigen Behandeln mit 4%iger Essigsäure 94,6 mg Blei ab. Nachdem die von der Lösung getrennte und von anhaftender Säure befreite Probe mittels Alkohol und Äther getrocknet worden war, wurde sie nochmals im Achatmörser eine längere Zeit zerrieben. Die eine Hälfte der so erhaltenen Probe wurde alsdann einer abermaligen Prüfung mit 4%iger Essigsäure sofort unterzogen, die andere Hälfte wurde hingegen vorher nochmals umgeschmolzen. Die erste Probe zeigt eine Bleiabgabe von 31,9 mg, berechnet auf 2 g Glasur, die umgeschmolzene Probe, unter den gleichen Bedingungen dagegen von 103,5 mg. Als gleichartige Versuche mit Proben von 5% Borsäure enthaltendem Trisilikat, sowie 5% Tonerde enthaltendem Disilikat angestellt wurden, waren die entsprechenden Werte in dem ersten Falle: 64 mg, 32 mg und 68,6 mg, in dem zweiten Falle: 41,6 mg, 22,4 mg und 53 mg.

Der Umstand, daß die umgeschmolzenen Proben beim nochmaligen Behandeln mit der Säure einen wesentlich höheren Betrag von Blei abgaben, als die bis zu einem äußerst feinen Grade pulverisierten Proben, kann dadurch erklärt werden, daß beim Umschmelzen durch die eintretende thermolytische Dissoziation von neuem leichtlösliche Bleiverbindungen entstanden sind, wodurch die oben geäußerte Auffassung eine weitere Stütze findet.

Über den Zusammenhang zwischen der Bleiabgabe einer Glasur und ihrer chemischen Zusammensetzung läßt sich eine Gesetzmäßigkeit von allgemeiner Gültigkeit ebenso wenig ableiten, wie bisher die Frage über die Widerstandsfähigkeit des Glases gegenüber chemischen Reagenzien überhaupt eine in dieser Hinsicht befriedigende Erklärung gefunden hat. Thorpe[2]) hat eine Berechnung angegeben, nach der eine meist zutreffende Auskunft über die Löslichkeit des Bleis in den mannigfaltig zusammengesetzten Glasuren erhalten werden kann. Das Verfahren besteht darin, daß man die Zahl der in einer Glasur enthaltenen basischen und sauren Moleküle ermittelt und den Quotienten $\frac{\text{Saure Moleküle}}{\text{Basische Moleküle}}$ bildet. An einer großen Zahl der von ihm untersuchten bleihaltigen Glasuren fand er die Regel bestätigt, daß die Bleilöslichkeit gering ist, wenn der Quotient $\frac{\text{Saure Moleküle}}{\text{Basische Moleküle}}$ größer als 1,9 ist, was aus der beigefügten Tabelle noch näher ersehen werden kann.

---

[1]) Vergl. auch die während des Druckes dieser Abhandlung erschienene Veröffentlichung von Hilpert und Weiller, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 42. Jahrg. (1909), S. 2976.

[2]) Report 1901. S. 26 u. 27.

Abhängigkeit der Bleiabgabe einer Fritte von dem Quotienten: $\frac{\text{Saure Moleküle}}{\text{Basische Moleküle}}$.

Nr.	Wert für den Quotienten: Saure Moleküle / Basische Moleküle	Bleiabgabe in Prozenten, bezogen auf die angewandte Menge Silikat	Nr.	Wert für den Quotienten: Saure Moleküle / Basische Moleküle	Bleiabgabe in Prozenten, bezogen auf die angewandte Menge Silikat
1	2,75	Spuren	15	1,98	0,4
2	2,56	"	16	1,95	3,0
3	2,49	1,2	17	1,93	1,5
4	2,43	0,7	18	1,89	2,0
5	2,42	2,4			
6	2,37	2,1	19	1,44	40,1
7	2,35	0,2	20	1,43	39,5
8	2,20	0,2	21	1,42	10,8
9	2,18	0,6	22	1,38	5,1
10	2,15	0,2	23	1,27	28,0
11	2,10	0,2	24	1,20	70,3
12	2,02	1,7	25	1,13	67,3
13	2,06	0,7	26	0,90	70,0
14	1,98	0,8			

Für eine schnelle Orientierung leistet anscheinend das von Thorpe vorgeschlagene Verfahren gute Dienste, immerhin ist es nicht geeignet, im einzelnen über die Wirkung eines Glasurbestandteiles eine zutreffende Auskunft zu erteilen. So verhalten sich die Zusätze von Borsäure und Tonerde nach den hier gemachten Erfahrungen gerade umgekehrt, als wie man nach der Thorpeschen Regel erwarten müßte. Dies mag zum Teil darin eine Erklärung finden, daß bei der Ausführung der obigen Berechnung auf die Bildung komplexer Verbindungen wie Borosilikate und Alumosilikate nicht Rücksicht genommen wird. Auch ist es nicht ausgeschlossen, daß die Tonerde dem Bleioxyd gegenüber und namentlich bei der hohen Bildungstemperatur der Glasuren als Säure anzusprechen ist.

5. Das Verhalten der Glasuren beim ½stündigen Kochen mit 4%iger Essigsäure.

Während die bisher erwähnten Versuche dazu dienten, die in den Bleisilikaten bestehenden Verhältnisse von einem allgemeineren Gesichtspunkte aus kennen zu lernen, ist der folgende Teil der Frage über das Verhalten der bleihaltigen Glasuren bei der Einwirkung von kochender 4%iger Essigsäure gewidmet, welche mit Rücksicht auf die Anforderungen, die das Gesetz betreffend den Verkehr mit blei- und zinkhaltigen Gegenständen an die mit einer bleihaltigen Glasur versehenen Geschirre stellt, von besonderer, praktischer Bedeutung ist.

Um zunächst den Grad des Aufschlusses der verschiedenen Bleiglasuren bei der Temperatur der kochenden 4%igen Essigsäure zu ermitteln, wurden 2 g große, fein gepulverte Proben ½ Stunde lang mit 100 ccm 4%iger Essigsäure in einem Erlenmeyerschen Kölbchen unter Benutzung eines Rückflußkühlers gekocht. Da nach den früheren Versuchen die Monosilikate sämtlich bereits bei 25° vollständig von der

Essigsäure gelöst werden, konnte in diesem Falle von ihrer Verwendung Abstand genommen werden. Nach dem Abfiltrieren der Kochflüssigkeit wurde das gelöste Blei in derselben Weise wie früher ermittelt. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen enthalten, und die durch die früheren Untersuchungen bei 25° erhaltenen Ergebnisse sind der besseren Übersicht halber nochmals angegeben. An den einzelnen Proben wurde die Prüfung wiederholt vorgenommen, und die Ergebnisse dieser mehrfachen Auskochungen sind in den horizontalen Reihen unter I, II, III usw. aufgezeichnet. Die Zahlen in ( ) bedeuten die Prozente Blei, bezogen auf die in den Proben vorhandenen Mengen Blei.

Verhalten der einfachen Bleisilikate gegen kochende 4%ige Essigsäure.

Bezeichnung der Probe	2 g Probe enthielten mg Blei	mg (Prozente[1]) Blei wurden von 4%iger Essigsäure gelöst						
		bei 25° in 2 Stunden		beim ½ stündigem Kochen				
		I	II	I	II	III	IV	V
Disilikat	1146	94,5 (8,2)	5,10 (0,6)	358 (31,1)	52,8 (4,6)	26,4 (2,3)	25,2 (2,2)	8,4 (0,7)
Trisilikat	964	17 (1,76)	5 (0,5)	85,6 (8,8)	14,0 (1,4)	0	—	—
Tetrasilikat	856	17 (2,12)	4 (0,4)	74,7 (8,7)	13,0 (1,5)	0	—	—

Verhalten der 5% Borax enthaltenden Bleisilikate gegen kochende 4%ige Essigsäure.

Bezeichnung der Probe	2 g Probe enthielten mg Blei	mg (Prozente) Blei wurden von 4%iger Essigsäure gelöst						
		bei 25° in 2 Stunden		beim ½ stündigem Kochen				
		I	II	I	II	III	IV	V
Disilikat	1102	594 (53,9)	100 (9,1)	777,5 (70,5)	182,4 (16,5)	82,5 (7,5)	29,0 (2,6)	9,5 (0,8)
Trisilikat	963	38 (3,95)	12 (1,2)	233 (24,1)	57,2 (5,9)	29,2 (3,0)	18,2 (1,8)	9,8 (0,9)
Tetrasilikat	833	16 (1,9)	2 (0,2)	72,8 (8,7)	14,6 (1,7)	10,6 (1,2)	5,6 (0,6)	1,7 (0,2)
Pentasilikat	718	14 (1,9)	2 (0,2)	56,8 (7,9)	9,6 (1,3)	2,0 (0,3)	0	—

Verhalten der 5% Borsäure enthaltenden Bleisilikate gegen kochende 4%ige Essigsäure.

Bezeichnung der Probe	2 g Probe enthielten mg Blei	mg (Prozente) Blei wurden von 4%iger Essigsäure gelöst						
		bei 25° in 2 Stunden		beim ½ stündigem Kochen				
		I	II	I	II	III	IV	V
Disilikat	1146	397 (34,6)	—	542 (47,3)	160 (13,9)	58,4 (5,1)	44 (3,8)	17,2 (1,5)
Trisilikat	968	58,8 (6,07)	—	203 (20,9)	23,7 (2,4)	19,4 (2,0)	14,8 (1,5)	—

[1]) Bezogen auf die vorhandene Menge Blei.

Verhalten der 5% Kalk enthaltenden Bleisilikate gegen kochende 4%ige Essigsäure.

Bezeichnung der Probe	2 g Probe enthielten mg Blei	mg (Prozente) Blei wurden von 4%iger Essigsäure gelöst						
		bei 25° in 2 Stunden		beim ½stündigem Kochen				
		I	II	I	II	III	IV	V
Disilikat	1140	360 (31,6)	—	499 (43,7)	84,8 (7,4)	60,4 (5,3)	36,2 (3,2)	—
Trisilikat	970	19,6 (2,0)	—	75,2 (7,7)	19,4 (2,0)	3,5 (0,4)	—	—

Verhalten der tonerdehaltigen Bleisilikate gegen kochende 4%ige Essigsäure.

A. Tonerdegehalt: 5%.

Bezeichnung der Probe	2 g Probe enthielten mg Blei	mg (Prozente) Blei wurden von 4%iger Essigsäure gelöst						
		bei 25° in 2 Stunden		beim ½stündigem Kochen				
		I	II	I	II	III	IV	V
Disilikat	1116	39,4 (3,5)	—	138 (12,4)	30,1 (2,7)	17,7 (1,6)	—	—
Trisilikat	942	10,9 (1,2)	—	29,1 (3,1)	5,5 (0,6)	0	—	—
B. Tonerdegehalt: 2,5%.								
Disilikat	1148	42,0 (3,7)	—	247 (21,5)	49,1 (4,3)	33,2 (2,9)	—	—
Trisilikat	996	13,8 (1,4)	—	48,8 (4,9)	12,0 (1,2)	8,1 (0,8)	—	—

Verhalten einiger in der Praxis verwendeten Glasuren (vgl. Anm.[1]) gegen kochende 4%ige Essigsäure.

Bezeichnung der Probe		2 g Probe enthielten mg Blei	mg (Prozente) Blei wurden von 4%iger Essigsäure gelöst			
			bei 25° in 2 Std.	bei ½stündigem Auskochen		
				I	II	III
R-Glasur		412	82 (19,9)	211,6 (51,3)	48,0 (11,6)	17,7 (4,3)
V-Glasur	I. Probe	450	8,6 (1,9)	15,2 (3,4)	1,9 (0,4)	—
	II. Probe	468	11,45 (2,4)	20,8 (4,4)	2,6 (0,5)	—

[1]) Anmerkung. Die mit R bezeichnete Glasur wird nach Angabe der Fabrik wie folgt hergestellt. 18 kg Kieselsäure, 6 kg Kreide, 11 kg Mennige, 7 kg Borsäure und 7,5 kg Salpeter werden zweimal zusammengeschmolzen, dann vermahlen und mit 20% Kaolin vermischt. Der Bleioxydgehalt der durch das Zusammenschmelzen der Fritte mit dem Kaolin entstehenden und

Die Ergebnisse der Löslichkeitsversuche in kochender 4%iger Essigsäure stimmen in dem Grundsatz, daß nur ein Teil des Bleis aus den Glasuren herausgelöst wird, mit den früheren bei 25° erhaltenen überein. Auch ist an dem Abfallen der Bleiabgabe bei den mehrfachen aufeinander folgenden Auskochungen der Einfluß der Diffusion deutlich erkennbar. Graduell sind jedoch die Ergebnisse verschieden von den früheren, insofern als durch die kochende 4%ige Essigsäure die Aufschließung der einzelnen bleihaltigen Bestandteile der Glasur weiter geht, sodaß unter diesen Bedingungen der Betrag an leichtlöslichen Bestandteilen größer wird.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt worden ist[1]), sind von Koerner eine Anzahl Bleiglasuren beschrieben worden, welche der Einwirkung der kochenden 4%igen Essigsäure Widerstand leisteten und kein Blei abgaben. Es handelte sich hierbei um tonerdehaltige oder zinkoxyd- und tonerdehaltige kieselsäurereiche Bleiglasuren, welche erst bei hohen Temperaturen schmolzen. Das günstige Ergebniss der Koernerschen Versuche dürfte jedoch auf die Art des Untersuchungsverfahrens zurückzuführen sein. Die Glasuren wurden in der Form von Perlen und Fäden, welche eine verhältnismäßig kleine und zusammenhängende Oberfläche von geringer Angreifbarkeit besitzen, angewandt. Als von Pukall, wie bereits erwähnt worden ist[2]), die als widerstandsfähig geschilderten Glasuren zur Herstellung von Geschirren verwendet wurden, wobei unter anderem eine größere Oberfläche entstand, konnte bei der Prüfung mit kochender 4%iger Essigsäure das günstige Ergebnis Koerners nicht bestätigt werden.

6. Über das Schmelzen der Bleisilikate.

Von großer Bedeutung für die praktische Verwendung der Glasuren ist deren Schmelzbarkeit. Von eigentlichen Schmelzpunkten kann man bei den bleihaltigen Glasuren nicht sprechen. Wie neuerdings von Doelter[3]) durch das Studium der Leitfähigkeit der Silikatschmelzen festgestellt worden ist, daß der Übergang der flüssigen Silikatschmelzen in den starren glasartigen Zustand kontinuierlich verläuft, so treten auch bei den Bleigläsern nicht die für den plötzlichen Übergang Fest ⇆ Flüssig maßgebenden Merkmale auf. Wenn man eine solche feste Glasurmasse erhitzt, so wird diese mit steigender Temperatur allmählich weich und schließlich flüssig. In

zu den obigen Versuchen benutzten Glasur berechnet sich ungefähr zu 21,5% (gef. 22,2%). Die Glasur entspricht auf Grund einer nach den obigen Angaben ausgeführten Berechnung etwa einem Silikat von folgender Zusammensetzung: 1 Mol. Bleioxyd, 7,5 Mol. Kieselsäure mit 14,35% Borsäure und 6,75% Tonerde. Sie zeichnet sich demnach durch den hohen Borsäuregehalt aus, wodurch auch die starke Bleiabgabe veranlaßt sein dürfte.

Die V-Glasur enthält auf Grund einer früheren, von der Fabrik mitgeteilten Analyse die folgenden Bestandteile: 48,2% Kieselsäure, 28,47% Bleioxyd, 8,83% Zinnoxyd + Antimonoxyd, 1,1% Eisenoxyd, 7,5% Aluminiumoxyd, 0,8% Kalziumoxyd, 0,38% Magnesiumoxyd, 5,2% Alkalien und Spuren von Kobalt. Der Bleioxydgehalt der beiden hier untersuchten Proben wurde gefunden bei Probe 1 (in Stücken geliefert) zu 23,76%, bei Probe 2 (gemahlen geliefert) zu 25,26%. Die Abweichungen in dem Bleioxydgehalt der beiden hier untersuchten Proben dürften durch die Art der Herstellung bedingt sein. Die geringe Bleiabgabe der Glasur kann zum Teil auf den hohen Tonerdegehalt zurückgeführt werden.

[1]) Siehe Seite 205.

[2]) Siehe Seite 206.

[3]) Monatshefte 1907. S. 1377.

dem Flüssigkeitsgrad unterscheiden sich hierbei die verschieden zusammengesetzten Glasuren voneinander und namentlich die Bleiglasuren sind wegen der Leichtflüssigkeit ihrer Schmelzen sehr geschätzt. Will man die Schmelzbarkeit verschiedener Glasuren vergleichen oder den Einfluß von Zusätzen auf die Schmelzbarkeit bewerten, so läßt sich dies durch die Ermittelung solcher Punkte erreichen, welche dem gleichen Grad von Zähigkeit des Schmelzflusses entsprechen. Als ein solcher Punkt kann beispielsweise der angesehen werden, bei welchem sich die gekörnte lose Glasurmasse in eine zusammenhängende zähe Schmelze verwandelt. Nach dem unten angegebenen Verfahren wurden diese Punkte für die früher beschriebenen Bleiglasuren bestimmt, und es konnte auf diese Weise ein Maß für die Schmelzbarkeit der Glasuren und für den Einfluß der verschiedenen Zusätze erhalten werden.

Das Verfahren, diese „Erweichungspunkte[1])" genau zu ermitteln, beruht auf dem folgenden Grundsatz. Doelter[2]) hatte beobachtet, daß die festen glasartig erstarrten Silikate im Gegensatze zu den kristallin erstarrten die Elektrizität leiten. Auch die Bleiglasuren besitzen die Eigenschaft, bereits im festen und weichen Zustande die Elektrizität zu leiten. Da jedoch die Elektrizitätsleitung nicht durch eine lose gepulverte oder gekörnte Masse erfolgen kann, so zeigt das Eintreten elektrischer Leitung beim Erhitzen der gekörnten Glasur an, daß die letztere im Begriff ist, zu einer zusammenhängenden Masse zu verschmelzen.

Das Verfahren selbst gestaltet sich wie folgt. Die gefrittete Glasur wird zu kleinen Körnern zerstoßen und in einen unglasierten Porzellantiegel gefüllt (Fig. 7). Dieser wird mit einem etwas größeren Porzellantiegel umgeben und nach dem Ausfüllen des hierbei entstehenden Zwischenraumes durch Asbestwolle in einem kleinen elektrischen Tiegelofen nach Heraeus gesetzt. In die Glasurmasse werden zwei Elektroden eingeführt; in dem vorliegenden Falle bestand die eine in einem dicken Platindraht, die andere in einem dünnen Platindraht, der spiralförmig auf das Marquardt-Rohr des eingetauchten Thermoelementes gewickelt war. Der elektrische Ofen, sowie die Elektroden sind an die Starkstromleitung (110 Volt) angeschlossen. In die Elektrodenleitung kann mittels eines Umschalters ein Millivoltmeter, welches auch zum Ablesen der durch das Thermoelement gemessenen Temperaturen dient, eingeschaltet werden. Die Öffnung des Tiegelofens wird mit geeigneten Asbestplatten zugedeckt.

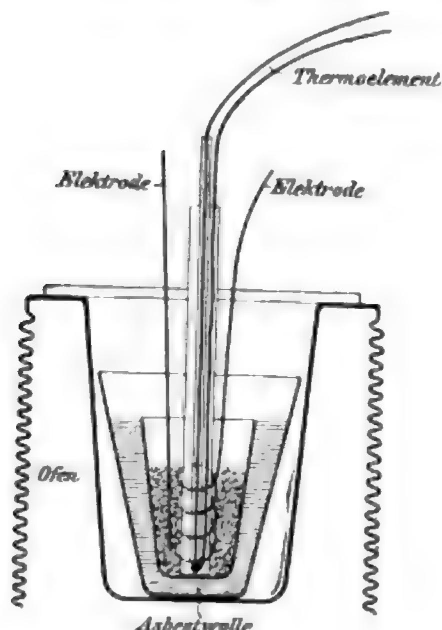


Fig. 7.

Ein Versuch findet dann in der Weise statt, daß der Ofen langsam angeheizt und gleichzeitig das Meßinstrument in die Elektrodenleitung eingeschaltet wird. Zu-

[1]) Lehmann, Molekular physik I. S. 705.
[2]) A. a. O.

nächst zeigt das Instrument keinen Strom an, nach einiger Zeit jedoch beginnt der Zeiger plötzlich zu wandern und erreicht schnell die Mitte der Skala. In diesem Augenblick unterbricht man den Strom, legt den Umschalter um und liest die durch das Thermoelement angegebene Temperatur ab.

Nach diesem Verfahren wurde stets mit großer Genauigkeit ein übereinstimmendes Ergebnis bei verschiedenen Proben derselben Glasur erhalten. Die hierbei beobachteten Schwankungen betrugen im Höchstfalle 10 Grad, und selbst ein auffallender Unterschied in der Korngröße war für das Ergebnis belanglos. Wandte man die Glasur in der Form eines feinen Pulvers an, so waren die Beobachtungen weniger scharf, im wesentlichen jedoch die gleichen.

Aus den folgenden Tabellen, sowie aus dem beigefügten Diagramm (Fig. 8) ist zu entnehmen, in welcher Weise mit dem Kieselsäuregehalt bei den einzelnen Reihen der Erweichungspunkt steigt, und welchen Einfluß die verschiedenen Zusätze auf die Erweichungspunkte ausüben.

Erweichungspunkte der reinen Bleisilikate.

	Erweichungspunkt °	Differenz °
Monosilikat[1]	480	
		90
Disilikat	570	
		50
Trisilikat	620	
		30
Tetrasilikat	650	

Erweichungspunkte der 5 % Borax enthaltenden Bleisilikate.

	Erweichungspunkt °	Differenz °
Monosilikat	450	
		60
Disilikat	510	
		40
Trisilikat	550	
		40
Tetrasilikat	590	

Erweichungspunkte der 5 % Borsäure enthaltenden Bleisilikate.

	Erweichungspunkt °	Differenz °
Monosilikat	460	
		80
Disilikat	540	
		60
Trisilikat	600	

Erweichungspunkte der $2\frac{1}{2}$ % Kalk enthaltenden Bleisilikate.

	Erweichungspunkt °	Differenz °
Monosilikat	520	
		70
Disilikat	590	

Erweichungspunkte der Tonerde-haltigen Bleisilikate.

Tonerdegehalt $2\frac{1}{2}$ %

	Erweichungspunkt °	Differenz °
Monosilikat	535	
		65
Disilikat	600	
		30
Trisilikat	630	

Tonerdegehalt 5 %.

	Erweichungspunkt °	Differenz °
Monosilikat	595	
		65
Disilikat	660	
		40
Trisilikat	700	

Die Erweichungspunkte werden demnach durch einen Zusatz von Borax und Borsäure erniedrigt, durch einen Zusatz von Kalk und Tonerde dagegen erhöht. Im

[1]) Der Schmelzpunkt des kristallinen Monosilikates beträgt nach Hilpert und Weiller 770°, nach Cooper, Shaw und Loomis 766° (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 42. Jahrg. [1909], S. 2969 sowie S. 3991).

Einklang hiermit steht die praktische Erfahrung, daß Borsäure und Borax gute Flußmittel für eine Glasur sind, während Kalk und Tonerde die Strengflüssigkeit der Glasuren verursachen. Für die Bleiglasuren ergibt sich ferner, daß die Schmelzbarkeit und die Bleiabgabe nicht in gleichem Sinne durch die verschiedenen Zusätze beeinflußt werden, da, wie bereits erwähnt worden ist, durch den Zusatz von Borax, Borsäure und Kalk die Bleiabgabe erleichtert, durch den Zusatz von Tonerde dagegen erschwert wird.

II. Versuche mit aufgebrannten Glasuren.

Die Versuche mit aufgebrannten Glasuren sind zu dem Zweck ausgeführt worden, um über die Frage nach dem Einfluß der Oberfläche sowie dem Verhalten der Glasuren beim Brennen lediglich einige allgemeine Anhaltspunkte zu gewinnen; da auch Laboratoriumsversuche der beschriebenen Art nicht dazu geeignet sind, die mannigfaltigen in der Praxis herrschenden Verhältnisse in einer genügenden Weise zu berücksichtigen, so können sie nur als orientierende Versuche betrachtet werden.

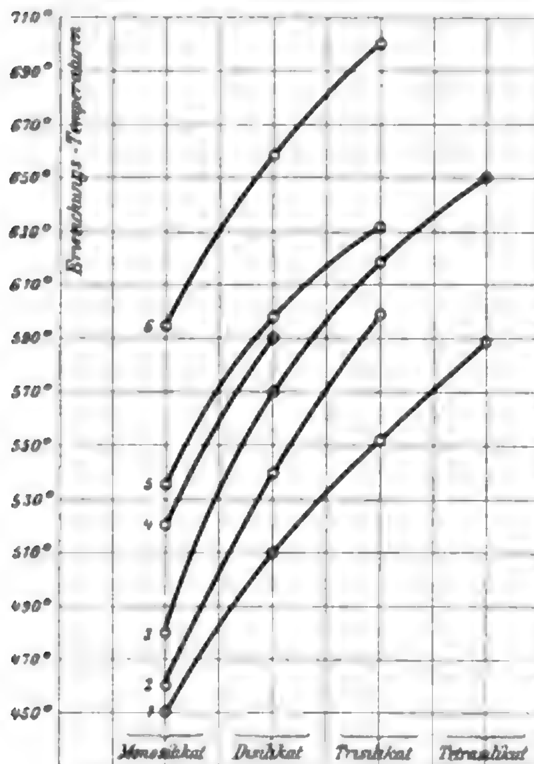


Fig. 8.

Kurve 1 für Silikate mit 5 % Borax
„ 2 „ „ „ 5 % Borsäure
„ 3 „ „ ohne Zusatz
„ 4 „ „ mit 2,5 % Kalk
„ 5 „ „ „ 2,5 % Tonerde
„ 6 „ „ „ 5 % „

Um das Verhalten der aufgebrannten Glasuren zu prüfen, wurden zwei Wege eingeschlagen. Der eine bestand darin, daß die fertig dargestellten Bleigläser, die sogenannten Fritten, als feines Pulver mit Wasser zu einem Brei angerieben und mittels eines Pinsels auf Tonplatten von etwa 80 qcm Oberfläche aufgetragen wurden. Alsdann wurden die Platten in einem elektrischen Ofen auf eine Temperatur von ungefähr 1100° erhitzt, wodurch es gelang, die Tonplatten mit einer schönen gleichmäßigen Glasur zu überziehen. Ein anderes Verfahren bestand darin, daß die Glasur erst auf der Tonplatte hergestellt wurde in der Weise, daß man an Stelle der gefritteten Glasurmasse ein Gemisch der einzelnen Bestandteile, wie es in den Töpfereibetrieben meist der Fall ist, auf die Tonplatten auftrug. Die für die Herstellung der einzelnen Glasurüberzüge nach dem letzteren Verfahren erforderliche Zeit war je nach dem Grade der Schmelzbarkeit des Glasuransatzes sehr verschieden und betrug z. B. bei den am schwersten schmelzbaren Tonerde-haltigen Glasuren ungefähr 24 Stunden. Die Mengen der aufgebrannten Glasurmassen beliefen sich auf etwa $1^1/_2$ g für eine Fläche von 100 qcm. Zur Prüfung auf die Abgabe von Blei wurden die glasierten Tonplatten soweit zu Scherben zerkleinert, daß letztere sich leicht in einen Erlenmeyerschen Kolben einführen ließen. Nachdem sie darin mit 100 ccm 4 %iger

Essigsäure übergossen waren, wurden sie 1/2 Stunde lang unter Verwendung eines Rückflußkühlers ausgekocht. In einigen Fällen wurden die unzerteilten glasierten Platten in einer Porzellanschale mit 4%iger Essigsäure übergossen und 1/2 Stunde lang gekocht, was im wesentlichen zu denselben Ergebnissen führte. Die genaue Ermittelung der gelösten Bleimengen fand nach dem früher beschriebenen titrimetrischen Verfahren statt. Da die charakteristischen Unterschiede in der Löslichkeit der Glasuren nach den früheren Erfahrungen bei den ersten Gliedern der Reihe, den Mono-, Di- und Trisilikaten, welche auch hauptsächlich für das Töpfergewerbe in Betracht kommen, auftreten, wurden die Versuche auf diese Proben beschränkt, zumal in dem zur Verfügung stehenden Ofen ein gutes Fließen der höheren Silikate nicht mehr erreicht werden konnte.

Die Versuche wurden zunächst mit gefritteten Glasuren und zwar den einfachen und 5% Borax enthaltenden Bleisilikaten sowie einigen in der Praxis verwendeten Glasuren angestellt. Hierbei wurden die Platten etwa drei Stunden lang erhitzt, d. h. nur so lang als eben notwendig war, um in allen Fällen einen gut geflossenen Glasurüberzug zu erhalten.

In den beigefügten Tabellen sind zum Vergleich die Mengen Blei angegeben, welche beim 1/2stündigen Kochen von 2 g der gepulverten Probe mit 4%igem Essig gelöst wurden. Die Bleiabgabe der aufgebrannten Glasuren ist in mg Blei, auf 100 qcm Fläche berechnet, ausgedrückt.

Bleiabgabe der aus Fritten von reinen Bleisilikaten hergestellten Glasuren.

Bezeichnung des Silikates	Bleiabgabe von 2 g der pulverförmigen Fritte bei dem 1/2stünd. Kochen	Bleiabgabe einer 100 qcm großen glasierten Fläche
Monosilikat	vollkommen löslich	35,8 mg
Disilikat	358 mg oder 31,1 %[1]	12,3 „
Trisilikat	85,6 „ „ 8,8 „	3,2 „

Bleiabgabe der aus Fritten von 5% Borax enthaltenden Bleisilikaten hergegestellten Glasuren.

Bezeichnung des Silikates	Bleiabgabe von 2 g der pulverförmigen Fritte bei dem 1/2stünd. Kochen	Bleiabgabe einer 100 qcm großen glasierten Fläche
Monosilikat	vollkommen löslich	110,6 mg
Disilikat	777,5 mg oder 70,5 %	24,7 „
Trisilikat	233 „ „ 24,1 „	16,4 „

Bleiabgabe einiger Glasuren aus Fritten, die in der Praxis verwendet werden (vgl. früher).

Bezeichnung des Silikates	Gefundener Bleioxydgehalt der Fritte	Bleiabgabe von 2 g der pulverförmigen Fritte bei dem 1/2stünd. Kochen	Bleiabgabe einer 100 qcm großen glasierten Fläche
R.	22,2 %	211,5 mg oder 51,3 %	26,1 mg
V. (1. Probe)	23,7 „	15,2 „ „ 3,4 „	0,7 „
„ (2. „)	25,2 „	20,8 „ „ 4,4 „	1,2 „

[1] Berechnet auf die vorhandene Menge Blei.

Die Bleiabgabe der glasierten Platten fällt somit im Sinne der Widerstandsfähigkeit der verwendeten gepulverten Glasuren aus. Jedoch ist die Bleiabgabe in dem ersten Falle durchgehend geringer, und die Unterschiede sind bei den einzelnen glasierten Proben weniger ausgesprochen als bei den pulverförmigen Glasuren. Die vermehrte Widerstandsfähigkeit der aufgebrannten Glasuren beruht zum großen Teil naturgemäß auf dem Vorhandensein und der Beschaffenheit einer zusammenhängenden glatten Oberfläche. Zum Teil dürfte sie jedoch auch auf die Veränderungen, welche die Glasur beim Aufbrennen erleidet, wie aus den folgenden Versuchen mit ungefritteten Glasuren hervorgeht, zurückzuführen sein.

Als die Platten nach dem zweiten erwähnten Verfahren glasiert wurden, nämlich durch das Auftragen und nachfolgende Brennen eines ungefritteten Glasurgemisches, konnte zunächst erkannt werden, daß die Beschaffenheit der Glasur je nach der Dauer des Brennens sehr verschieden ausfiel. Von zwei Proben, welche z. B. mittels des Glasurgemisches, das dem einfachen Bleimonosilikat entsprach, hergestellt waren und sich äußerlich kaum voneinander unterschieden, erwies sich die eine nur kurze Zeit erhitzte beim Kochen in der 4%igen Essigsäure als vollkommen löslich, die andere länger erhitzte gab hingegen nur 22,5 mg Blei an die Säure ab. Der Einfluß der Brenndauer auf die Beständigkeit der Glasuren mag u. a. auch aus den in der folgenden Übersicht angegebenen Versuchen entnommen werden, welche mit den Glasurgemischen ausgeführt worden sind, die den einfachen Bleidisilikaten, den 5 % Borax, 2½ % sowie 5 % Tonerde enthaltenden Bleidisilikaten und schließlich den 5 % Tonerde enthaltenden Bleitrisilikaten entsprachen.

Die Bleiabgabe von Glasuren aus ungefritteten Glasurgemischen nach verschiedener Brenndauer.

Glasurmischung	Brenndauer	Bleiabgabe einer 100 qcm großen Fläche
Einfaches Bleidisilikat	3 Stunden (bis zum klaren Fließen)	72 mg
desgl.	6 Stunden	8,1 „
desgl.	9 „	2,2 „
Bleidisilikat + 5 % Borax (wasserfrei)	3 „	246 „
desgl.	6 „	8,7 „
desgl.	9 „	6,0 „
Bleidisilikat + 2,5 % Tonerde	8 „	0,3 „ (ganzer Scherben gekocht)
desgl.	8 „	0,6 mg (in Stücken gekocht)
desgl.	15 „	0,6 mg (ganzer Scherben gekocht)
desgl.	15 „	0,5 mg (in Stücken gekocht)
Bleidisilikat + 5 % Tonerde	7 „	1,6 mg
desgl.	14 „	0,9 „
Bleitrisilikat + 5 % Tonerde	8 „	0,6 „
desgl.	8 „	0,5 „

An die obigen Versuchsergebnisse seien einige Betrachtungen angeknüpft. Die Abnahme der Bleiabgabe bei längerem Erhitzen ist namentlich durch die Versuche mit den einfachen und 5 % Borax enthaltenden Glasuren, die an und für sich eine große Löslichkeit in der kochenden 4 %igen Essigsäure besitzen, zu erkennen. Die tonerdehaltigen Glasuren erwiesen sich zwar als die am schwersten darstellbaren, jedoch wiederum als die widerstandsfähigsten. Die große anfängliche Bleiabgabe der einfachen und Borax-haltigen Silikate dürfte zum Teil darin ihren Grund haben, daß bei der kurzen Brenndauer die Bestandteile des Glasurgemisches sich noch nicht vollkommen gebunden haben. Bei längerem Erhitzen sinkt jedoch die Bleiabgabe bis unter diejenige der aus den entsprechenden Fritten gewonnenen Glasuren herab. Eine Erklärnng für dieses Verhalten mag darin zu suchen sein, daß durch die flüssige Glasurmasse aus den Tonplatten Bestandteile herausgelöst werden, wodurch die Widerstandsfähigkeit erhöht wird. Unter den gegebenen Bedingungen (Temperatur, Zusammensetzung usw.) haben die leichflüssigen Schmelzen das Bestreben, in die stabilereren, schwerer schmelzbaren und strengflüssigen Glasuren überzugehen. Dies wird dadurch erreicht, daß die Bestandteile des Tons, wie Tonerde und Kieselsäure, durch die geschmolzene Glasur bis zu einem den jeweils herrschenden Bedingungen entsprechenden Grade aufgenommen werden, wodurch anderseits auch die Abgabe von Blei vermindert wird. Als eine wichtige Tatsache folgt hieraus, daß selbst bei der Verwendung eines an und für sich beträchtlich löslichen Glasurgemisches durch günstige Herstellungsbedingungen, wie z. B. hohe Temperatur und lange Brenndauer bei entsprechend zusammengesetzten Tonen, eine sehr widerstandsfähige Glasur gewonnen werden kann. Es stimmt dieses Ergebnis auch mit der praktischen Erfahrung überein, daß unter Umständen durch das Auftragen allein von Bleioxyd (Bleiglanz, Mennige) auf die Irdengeschirre und durch das nachfolgende Brennen Glasuren erhalten werden können, welche gegen die Einwirkung der 4 %igen Essigsäure eine große Widerstandsfähigkeit besitzen.

Wegen einiger weiteren Beobachtungen dieser Art sei auf die später beschriebenen Erfahrungen, welche gelegentlich der Herstellung von irdenen Geschirren gemacht werden konnten, verwiesen.

Wie bereits früher hervorgehoben wurde, ist nur ein Teil des in der Glasur befindlichen Bleis unter den angewandten Bedingungen löslich. Entsprechend der Beschaffenheit der Oberfläche der aufgebrannten Glasuren machen sich bei den letzteren Diffusionserscheinungen in weit größerem Maße bemerkbar als bei den gepulverten Glasuren, wie aus dem Verlauf der Bleiabgabe bei mehrfach wiederholtem Kochen derselben glasierten Proben entnommen werden kann. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß Platten mit einer Glasur aus R-Glasur und dem 5 % Borax enthaltenden Bleitrisilikat, welche in gemahlenem Zustande erhebliche Mengen Blei beim $^1/_2$stündigen Kochen mit 4 %iger Essigsäure abgaben, versehen und solange mit 4 %iger Essigsäure gekocht wurden, bis nur noch geringe Mengen Blei gelöst wurden. Der Verlauf der Bleiabgabe wurde dadurch verfolgt, daß von Zeit zu Zeit die Essigsäure vollständig abgegossen und erneuert wurde. In der jeweils entnommenen Säure wurde sodann die während der Kochdauer gelöste Bleimenge ermittelt und zum Vergleich die mittlere Bleiabgabe für eine halbe Stunde berechnet.

Verlauf der Bleiabgabe einer mit R-Glasur versehenen Probe beim wiederholten Auskochen.

(Die Bleiabgabe der gemahlenen 2 g großen nicht aufgebrannten Probe betrug beim ½stündigen Kochen mit 4 %iger Essigsäure 211,6 mg.)

Kochprobe	Kochdauer	Bleiabgabe der 100 qcm großen Fläche	
		in der Gesamtzeit	berechnet für ½ Stunde
1	1 Stunde	58,0 mg	29,0 mg
2	1 „	24,2 „	12,1 „
3	3 Stunden	59,4 „	9,9 „
4	4 „	59,2 „	7,4 „
5	2 „	15,6 „	3,9 „
6	2 „	11,2 „	2,8 „
7	4 „	16,0 „	2,0 „
8	4 „	8,0 „	1,0 „
	21 Stunden Gesamte Kochzeit	251,8 mg Gesamte Bleiabgabe	

Verlauf der Bleiabgabe einer mit dem 5 % Borax enthaltenden Bleitrisilikat glasierten Probe.

Die Bleiabgabe der gemahlenen 2 g großen nicht aufgebrannten Probe beim ½stündigen Kochen mit 4 %iger Essigsäure betrug 233 mg.)

Kochprobe	Kochdauer	Bleiabgabe der 100 qcm großen Fläche	
		in der Gesamtzeit	berechnet für ½ Stunde
1	½ Stunde	16,4 mg	16,4 mg
2	½ „	6,8 „	6,8 „
3	½ „	4,0 „	4,0 „
4	½ „	3,2 „	3,2 „
5	½ „	2,5 „	2,5 „
6	½ „	2,4 „	2,4 „
7	4 Stunden	12,4 „	1,55 „
8	4 „	4,0 „	0,5 „
9	6 „	4,8 „	0,4 „
10	4 „	weniger als 1,0 mg	—
	21 Stunden Gesamte Kochzeit	57,5 mg Gesamte Bleiabgabe	

Für den Verlauf der Bleiabgabe ist demnach bei den aufgebrannten Glasuren die Beschaffenheit der Oberfläche von wesentlicher Bedeutung. Im Vergleich zu den gepulverten Glasuren ist bei ihnen die Oberfläche klein und dementsprechend der Einfluß der Diffusion groß, sodaß nur ein geringer Teil des löslichen Bleis für das Lösungsmittel zugänglich ist. Dies muß auch als Grund dafür angesehen werden, daß ein an und für sich nicht unlösliches Bleisilikat der Einwirkung von Säuren widerstehen kann, wenn man ihm eine glatte und kleine Oberfläche gibt. Auch die günstigen Ergebnise der eingangs erwähnten Versuche von Koerner, sowie die Be-

obachtungen an Glasuren von Geschirren seitens Pukall und anderer müssen von diesem Gesichtspunkte aus beurteilt werden. Als ein sehr bezeichnender Versuch mag noch der folgende Erwähnung finden. Als zwei Trinkbecher von je 140 ccm Inhalt, die aus bleihaltigem sogenannten St-Louis-Kristallglas hergestellt waren, der gesetzlichen Prüfung unterworfen wurden, gaben dieselben je 0,3 mg Blei an den Essig ab. Der Bleigehalt des Glases wurde zu 30% ermittelt und eine 2 g große fein gepulverte Probe des Glases gab bei dem erstmaligen ½stündigen Kochen mit 4%iger Essigsäure 43 mg, bei dem zweiten Male 4 mg Blei ab.

Auch auf die Ergebnisse der folgenden Untersuchung einer Anzahl von Kochgeschirren sei an dieser Stelle hingewiesen.

III. Die Versuche mit Kochgeschirren.

Die mit den Kochgeschirren angestellten Versuche verfolgten den Zweck, über das Verhalten der bei der Herstellung von Irdengeschirren verwendeten bleihaltigen Glasuren gegen die kochende 4%ige Essigsäure, sowie über den Einfluß der bei dem Brennen der Geschirre vornehmlich in Betracht kommenden äußeren Bedingungen auf die Widerstandefähigkeit der Glasuren Erfahrungen zu sammeln.

1. Das Versuchsmaterail.

Zur Untersuchung gelangten 48 Geschirrproben, nämlich 31 Kochtöpfe und 17 Bratpfannen, welche aus drei Töpfereien eines bekannten Fabrikationsortes für Töpferwaren nach einem neuen Brande unter amtlicher Kontrolle entnommen waren. Von diesen 48 Proben waren 12 bei dem ersten Brande gut geraten, 8 waren dem Feuer zu stark ausgesetzt und 10 bei zu niedriger Temperatur gebrannt. Ferner befanden sich 6 Geschirre darunter, welche beim ersten Brande zu stark erhitzt und deswegen ein zweites Mal an der besten Stelle des Ofens, der Mitte, gebrannt waren, sowie 12 Geschirre, die beim ersten Male zu schwach und ein zweites Mal gebrannt waren, nachdem sie jedoch zuvor eine neue Glasur erhalten hatten.

Zur Herstellung der Glasur bedienen sich die genannten Töpfereien eines Glasuransatzes aus den folgenden Bestandteilen: 100 Gewichtsteile Bleiglanz, 30 Gewichtsteile Quarzsand und 36 Gewichtsteile Glasurlehm. Der letztere erhält nach den mitgeteilten Untersuchungsergebnissen 79,72% Kieselsäure, 4,27% Eisenoxyd, 9,13% Tonerde, 4,69% Natrium- und Kaliumoxyd, 0,74% Kalk, 0,77% Magnesia und etwa 1% Wasser. Die aus dem vorstehenden Ansatz durch das Brennen entstehende Glasur hat unter der Voraussetzung, daß weitere Bestandteile des Tons der Geschirre in die Glasur nicht übergehen, in bezug auf die wichtigsten Bestandteile folgende molekulare Zusetzung: 2,31 Mol. Kieselsäure, 1,00 Bleioxyd, 0,078 Tonerde.

In der Zusammensetzung entspricht somit die angewandte Glasur den für Irdengeschirr, dessen günstigste Brenntemperatur bei Segerkegel 010 (950°) liegt, allgemein als normal und gut geltenden Glasuren, welche in der Hauptsache als Bleidisilikate mit einem Gehalt von 0,05—0,1 Molekülen oder 1,5—3% Tonerde zu bezeichnen sind.

Der obengenannte Glasuransatz wird mit Wasser zu einem Brei von bestimmter

Zähigkeit, welche mit Hilfe eines Aräometers festgestellt wird, angerührt und alsdann durch Füllen oder Übergießen der Geschirre auf den Ton aufgetragen. Nach dem Antrocknen des Glasuransatzes werden die Geschirre in den Öfen etwa 36 Stunden lang gebrannt, wobei die Feuerung so geleitet wird, daß die Temperatur etwa dem Schmelzpunkt des Segerkegels 010 (950°) entspricht. Naturgemäß ist die Temperatur nicht an allen Stellen der sehr einfach konstruierten Öfen dieselbe. An den Eintrittsstellen der Flamme ist sie meist höher, an den Austrittsstellen niedriger als die erwähnte, sodaß der Standort der Geschirre im Ofen für deren Ausfallen von Bedeutung ist.

2. Die Untersuchungsverfahren.

Die Geschirre wurden mit destilliertem Wasser mehrere Male ausgespült und nach dem Abtrocknen mit Essigsäure, welche entsprechend den Vorschriften des Blei-Zink-Gesetzes in 100 Gewichtsteilen 4 Gewichtsteile Essigsäure enthielt, und zwar mit 50 ccm Säure für jedes Liter Gefäßinhalt, unter häufigem Bespülen der Gefäßwände ½ Stunde lang ausgekocht. Um ein allzu schnelles Verdampfen der Essigsäure zu vermeiden, wurde auf die Gefäße, soweit deren Form es zuließ, ein Rundkolben, welcher mit kaltem Wasser gefüllt war, gesetzt; andernfalls wurde die während des Kochens verdampfende Flüssigkeit durch Hinzufügen von 4%iger Essigsäure wieder ergänzt. Nach der Beendigung des Auskochens wurde die Lösung, nötigenfalles nach voraufgegangenem Filtrieren, in ein Glasgefäß gebracht und dort erkalten gelassen. Der Nachweis des gelösten Bleis fand nach einem qualitativen und einem quantitativen Verfahren statt.

a) Das qualitative Prüfungsverfahren.

Zum qualitativen Nachweis des in Lösung gegangenen Bleis diente die in den technischen Erläuterungen zu dem Entwurfe des Blei-Zink-Gesetzes von Wolffhügel[1]) vorgeschlagene Prüfung, welche darauf beruht, daß in die erkaltete Kochflüssigkeit Schwefelwasserstoffgas eingeleitet wird. Bei Gegenwart genügend großer Mengen Blei entsteht alsdann sofort ein schwarzer Niederschlag von Schwefelblei; sind jedoch nur geringere Mengen Blei in der Lösung vorhanden, so erhält man schwarzbraune bis gelbliche Färbungen der Flüssigkeit, je nachdem der Bleigehalt mehr oder weniger an die für die sofortige Fällung notwendige Konzentration des gelösten Bleis heranreicht. Beim Stehenlassen flockt das die Färbung verursachende Schwefelblei entsprechend seiner Menge schneller oder langsamer aus, und die über dem Niederschlag stehende oder abfiltrierte Flüssigkeit ist alsdann farblos. Um die Abhängigkeit des Bleinachweises von der Konzentration des vorhandenen Bleis zu zeigen, wurde in Mengen von 100 ccm 4%iger Essigsäure, welche wechselnde Mengen von Blei enthielten und sich in etwa 300 ccm fassenden Erlenmeyerschen Kölbchen befanden, Schwefelwasserstoffgas eingeleitet[2]). Aus der folgenden Übersicht ist unter anderem zu entnehmen, daß erst

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 2 (1887) S. 204.

[2]) Die Versuche verfolgten lediglich den Zweck darzutun, daß einerseits sich noch sehr geringe Mengen von Blei durch Einleiten von Schwefelwasserstoff nachweisen lassen, anderseits eine auf diesem Verfahren beruhende Beurteilung der Bleiabgabe von Kochgeschirren je nach der Auffassung des Untersuchenden verschieden ausfallen kann.

bei einem Bleigehalt von etwa 8—9 mg in 100 ccm 4%iger Essigsäure sofort ein Niederschlag von Schwefelblei entsteht, während unter den angewandten Bedingungen eine Menge von 0,2 mg noch deutlich durch die gelbliche Färbung der Flüssigkeit erkennbar ist.

Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf geringe Bleimengen in 4%iger Essigsäure.

mg Blei in 100 ccm 4% iger Essigsäure	Ausfall der Reaktion
0,05	Keine sichtbare Reaktion (in einem Reagenzglase in 5 cm hoher Flüssigkeitsschicht eben noch erkennbare schwachgelbe Färbung)
0,1	Eben noch erkennbare schwach lichtgelbe Färbung (in einem Reagenzglase wie oben, deutlich sichtbar)
0,2	Lichtgelbe Färbung
0,3	Gelblich-braune Färbung
0,4	Bräunliche Färbung
0,5	Hellbraune „
0,75	Braune „
1	„ „
1,5	Dunkelbraune „
2	„ „
2,5	„ „
3	Schwarzbraune „
3,5	Schwarzbraune Färbung; nach etwa 30 Minuten allmähliche Ausflockung
4	„ „ „ „ 30 „ „ „
4,5	„ „ „ „ 30 „ „ „
5	„ „ „ „ 15 „ „ „
5,5	„ „ „ „ 15 „ „ „
6	„ „ „ „ 5 „ „ „
6,5	„ „ „ „ 5 „ „ „
7,5	„ „ „ „ 2 „ sichtbare Ausflockung
8—9	„ „ sofortige Ausflockung

b) Das quantitative Untersuchungsverfahren.

Da es in dem vorliegenden Falle erforderlich war, die zum Teil sehr geringen Bleimengen, welche beim Auskochen der Geschirre gelöst werden, genau zu ermitteln, wurde das bereits früher angewandte Verfahren zur Bestimmung des Bleis durch einige Änderungen entsprechend verschärft und einer besonderen Nachprüfung unterzogen. Nach den hierbei gemachten Erfahrungen läßt sich das Blei, auch wenn es in Mengen von nur wenigen Zehntelmilligrammen vorhanden ist, praktisch vollständig in der Form von Bleichromat aus der essigsauren Lösung ausfällen, wenn ein hinreichend großer Überschuß des Fällungsmittels, einer Lösung von Kaliumbichromat, angewandt wird. Nach dem Abfiltrieren des Niederschlages kann alsdann die Bleimenge sowohl durch direkte Bestimmung des auf dem Filter befindlichen Niederschlages als auch durch Zurückmessen der überschüssigen Menge Kaliumbichromat

in dem Filtrat ermittelt werden. Die Ausführung einer Bestimmung gestaltet sich wie folgt:

Zu der durch $^1/_2$stündiges Auskochen der Gefäße erhaltenen und nötigenfalls filtrierten essigsauren Lösung gibt man in einem etwa 300 ccm fassenden Erlenmeyerschen Kölbchen eine abgemessene Menge Kaliumbichromatlösung, welche im Liter 0,7117 g[1]) durch mehrfaches Umkristallisieren und Trocknen bei 180° gereinigtes Kaliumbichromat enthält, von der somit 1 ccm 1 mg Blei entspricht. Die Menge des Zusatzes ist so zu wählen, daß ein Überschuß von etwa 10 ccm der obigen Bichromatlösung vorhanden ist. Darauf läßt man die Mischung in dem durch einen Gummistopfen verschlossenen Gefäße zur Erzielung einer vollkommenen und grobkörnigen Abscheidung des entstandenen Bleichromats längere Zeit stehen. Beträgt die vorhandene Bleimenge mehr als etwa 1 mg, so setzt sich der sofort deutlich sichtbare Niederschlag innerhalb 24 Stunden in der obigen Weise ab. Entsteht aber bei dem Zusatz der Kaliumbichromatlösung keine sichtbare oder eine nur sehr schwache Trübung, so muß die Lösung mindestens 3 Tage lang in dem verschlossenen Gefäße stehen bleiben. Der Niederschlag von Bleichromat wird durch ein Papier- oder Asbestfilter von der Flüssigkeit getrennt und dreimal mit geringen Mengen destillierten Wassers ausgewaschen, worauf die Ermittelung des Bleis auf den beiden folgenden Wegen stattfinden kann.

1. Der auf dem Filter befindliche Niederschlag von Bleichromat wird durch Übergießen mit warmer 10%iger Salzsäure gelöst. Hierbei läßt man die entstehende Lösung in das Gefäß fließen, in dem der Niederschlag von Bleichromat ursprünglich erzeugt worden war, sodaß die an den Gefäßwänden etwa haften gebliebenen Bleichromat-Teilchen bei der Bestimmung berücksichtigt werden. Zur Verdrängung des Luftsauerstoffes wird durch die erkaltete Lösung ein Kohlensäurestrom geleitet. Nach etwa 5 Minuten werden 5 ccm einer 10%igen Jodkaliumlösung zugesetzt; nach Verlauf von weiteren 5 Minuten wird das aus dem Jodkalium abgeschiedene Jod unter Verwendung von Stärke als Indikator unter stetem Hindurchleiten von Kohlensäure mittels einer Natriumthiosulfatlösung, welche gegen die obige Kaliumbichromatlösung in der bereits früher erwähnten Weise eingestellt ist, titriert.

2. Zu dem Filtrat vom Bleichromatniederschlag fügt man etwa 30 ccm 10%ige Salzsäure und bestimmt die überschüssige Menge Bichromat, wie unter 1. beschrieben ist. Die Differenz zwischen der ursprünglich zugesetzten Menge Kaliumbichromatlösung und der verbrauchten Menge Natriumthiosulfatlösung entspricht alsdann nach dem oben Gesagten den gelösten Bleimengen in mg.

Eine Prüfung des Verfahrens fand in der Weise statt, daß unter Verwendung einer Bleinitratlösung von bekanntem Gehalt wechselnde, zwischen 20 mg und 0,2 mg liegende Bleimengen jeweils in 100 ccm 4%iger Essigsäure gelöst und hierauf nach dem beschriebenen Verfahren bestimmt wurden. In der folgenden Übersicht sind die Ergebnisse dieser Nachprüfung enthalten.

---

[1]) Vgl. früher.

Ergebnisse der Prüfung des Verfahrens zur Bestimmung kleiner Bleimengen in essigsaurer Lösung mittels Kaliumbichromat.

angewandte Menge Blei in mg	Gefundene Menge Blei in mg: durch Ermittelung des überschüssigen Kaliumbichromats bestimmt	Differenz	durch Ermittelung des Bleis im Niederschlag bestimmt	Differenz	Mittelwert aus beiden Bestimmungen	Differenz
20	—	—	20,09	+ 0,09	—	—
	20,10	+ 0,10	20,00	± 0,00	20,05	+ 0,05
10	—	—	9,95	— 0,05	—	—
	10,00	± 0,00	10,00	± 0,00	10,00	± 0,00
	10,05	+ 0,05	10,07	+ 0,07	10,06	+ 0,06
5	5,02	+ 0,02	4,97	— 0,03	5,00	± 0,00
	5,02	+ 0,02	4,95	— 0,05	4,99	— 0,01
	5,04	+ 0,04	5,10	+ 0,10	5,07	+ 0,07
	5,04	+ 0,04	5,04	+ 0,04	5,04	+ 0,04
4	4,06	+ 0,06	—	—	—	—
	4,00	± 0,00	3,91	— 0,09	3,96	— 0,04
	4,10	+ 0,10	3,91	— 0,09	4,00	± 0,00
	4,10	+ 0,10	3,92	— 0,08	4,01	+ 0,01
2	2,04	+ 0,04	—	—	—	—
	1,92	— 0,08	—	—	—	—
	—	—	2,00	± 0,00	—	—
	2,00	± 0,00	2,00	± 0,00	2,00	± 0,00
	1,97	— 0,03	2,05	+ 0,05	2,01	+ 0,01
	2,05	+ 0,05	1,98	— 0,02	2,02	+ 0,02
	1,90	— 0,10	1,98	— 0,02	1,94	— 0,06
	2,00	± 0,00	1,93	— 0,07	1,97	— 0,03
1	0,97	— 0,03	—	—	—	—
	1,05	+ 0,05	1,00	± 0,00	1,03	+ 0,03
0,5	—	—	0,56	+ 0,06	—	—
	0,45	— 0,05	0,45	— 0,05	0,45	— 0,05
0,4	—	—	0,42	+ 0,02	—	—
	—	—	0,35	— 0,05	—	—
	—	—	0,40	± 0,00	—	—
	—	—	0,44	+ 0,04	—	—
	0,38	— 0,02	0,40	± 0,00	0,39	— 0,01
	0,35	— 0,05	0,33	— 0,07	0,34	— 0,06
	0,46	+ 0,06	0,41	+ 0,01	0,44	+ 0,04
0,2	—	—	0,17	— 0,03	—	—
	—	—	0,20	± 0,00	—	—
	0,22	+ 0,02	—	—	—	—
	0,21	+ 0,01	0,17	— 0,03	0,19	— 0,01
	0,25	+ 0,05	0,25	+ 0,05	0,25	+ 0,05
	0,30	+ 0,10	0,19	— 0,01	0,25	+ 0,05
	0,13	— 0,07	0,18	— 0,02	0,16	— 0,04
	0,20	± 0,00	0,20	± 0,00	0,20	± 0,00
	0,16	— 0,04	0,15	— 0,05	0,16	— 0,04
	0,21	+ 0,01	0,18	— 0,02	0,20	± 0,00
	0,20	± 0,00	0,20	± 0,00	0,20	± 0,00
Durchschnittliche Abweichung		$\frac{1,39}{33} = 0,042$ mg		$\frac{1,36}{38} = 0,036$ mg		$\frac{0,78}{28} = 0,028$ mg

Untersuchung von irdenen Kochgeschirren auf die Abgabe

Bezeichnung des Brandes der Geschirre und Stand derselben im Ofen	Bezeichnung der Geschirre nach ihrer Herkunft		Kochtöpfe						
			Beschreibung der Töpfe	Aussehen der Glasur	Ausfall der gesetzlichen Prüfung bei dem Nachweis des gelösten Bleis durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Kochflüssigkeit	Ausfall der genauen Ermittelung der gelösten Bleimengen bei 3 aufeinander folgenden Auskochungen I	II	III	Die bei der 1. Aus- [illegible]
Einmal gebrannt an bester Stelle (Mitte) des Ofens	Töpferei I	1	$1^1/_2$ Liter groß, Glasur: innen und außen	Gelb, hoher Glanz	Sofort deutliche Reaktion (braune Färbung)	1,4 mg	0,8 mg	0,5 mg	0,93 mg
		2	$2^1/_2$ Liter, Glasur: innen und außen	„	Schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	Die ersten beiden Auskochungen mißlangen		0,6 „	—
		3	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	—	—	—	—	—
	II	1	$1^1/_2$ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb, hoher Glanz	Kaum sichtbare Reaktion (lichtgelbe Färbung)	Die beiden ersten Auskochungen mißlangen		0,2 mg	—
		2	$1^1/_2$ Liter, Glasur: innen und außen	„	Sofort deutliche Reaktion (braune Färbung)	1,3 mg	0,7 mg	0,5 „	0,9 mg
		3	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	—	—	—	—	—
	III	1	$2^1/_2$ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb, hoher Glanz	Sofort deutliche Reaktion (braune Färbung)	1,5 mg	0,8 mg	0,3 mg	0,6 mg
		2	$1^1/_2$ Liter, Glasur: innen und außen	„	Sehr schwache Reaktion (lichtgelbe Färbung)	0,2 „	0,2 „	0	0,1 „
		3	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	—	—	—	—	—
Einmal gebrannt; vorn im Ofen, in der Nähe der Feuerung	I	1	$1^1/_2$ Liter, Glasur: innen	Grün	Sehr schwache Reaktion (lichtgelbe Färbung)	0,3 mg	0,4 mg	0	0,2 mg
		2	4 Liter, Glasur: innen	„	Deutliche Reaktion (hellbraune Färbung)	1,1 „	0,2 „	0,1 mg	0,3 „
	II	1	$1^1/_2$ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb	Schwache Reaktion (bräunliche Färbung)	0,8 mg	1 mg	0,4 mg	0,5 mg
		2	4 Liter, Glasur: innen und außen	Grünlich	Deutliche Reaktion (hellbraune Färbung)	1,6 „	0,4 „	0,2 „	0,4 „

von Blei beim halbstündigem Kochen mit 4%igem Essig.

Beurteilung der Geschirre von seiten des Töpfers	Bratpfannen							
	Beschreibung der Bratpfannen	Aussehen der Glasur	Ausfall der gesetzlichen Prüfung bei dem Nachweis des gelösten Bleis durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Kochflüssigkeit	Ausfall der genauen Ermittelung der gelösten Bleimengen bei 3 aufeinander folgenden Auskochungen I	II	III	Die bei der 1. Auskochung gelösten Bleimengen, bezogen auf 1 l Gefäßinhalt	Beurteilung der Geschirre von seiten d. Töpfers
gut geraten	—	—	—	—	—	—	—	gut geraten
	—	—	—	—	—	—	—	
	$2\frac{1}{2}$ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb, hoher Glanz	Sofort deutliche Reaktion (braune Färbung)	1,3 mg	0,2 mg	0,2 mg	0,5 mg	
	$1\frac{1}{2}$ Liter, Glasur: innen und außen	„	Schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,6 „	0,2 „	0,1 „	0,4 „	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	750 ccm Inhalt, Glasur: innen	Gelb, hoher Glanz	Schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,6 mg	0,2 mg	0,1 mg	0,8 mg	
	1 Liter Inhalt, Glasur: innen	„	„	0,8 „	0,1 „	0	0,8 „	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	2 Liter, Glasur: innen	Gelb, hoher Glanz	Schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,7 mg	0,4 mg	0,3 mg	0,4 mg	
	3 Liter, Glasur: innen und außen	„	„	0,7 „	0,6 „	0,2 „	0,2 „	
zu stark gebrannt	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
zu stark gebrannt / verkäuflich	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	

Bezeichnung des Brandes der Geschirre und Stand derselben im Ofen	Bezeichnung der Geschirre nach ihrer Herkunft		Kochtöpfe						
			Beschreibung der Töpfe	Aussehen der Glasur	Ausfall der gesetzlichen Prüfung bei dem Nachweis des gelösten Bleis durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Kochflüssigkeit	Ausfall der genauen Ermittelung der gelösten Bleimengen bei 3 aufeinander folgenden Auskochungen			Die bei der 1. Auskochung gelösten Bleimengen, [illegible]
						I	II	III	
Einmal gebrannt; vorn im Ofen, in der Nähe der Feuerung	Töpferei III	1	4 Liter, Glasur: innen und außen	Gelb	Deutliche Reaktion (hellbraune Färbung)	1,7 mg	0,2 mg	—	0,4 mg
		2	4 Liter, Glasur: innen	„	Sehr schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,3 „	0,2 „	0	0,08 „
		3	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	—	—	—	—	—
Einmal gebrannt; hinten im Ofen, kurz vor dem Austritt der Feuergase	I	1	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb, matter Glanz	Sofort sehr deutliche Reaktion (schwarzer Niederschlag)	7,1 mg	3,8 mg	0,9 mg	4,7 mg
		2	1½ Liter, Glasur: innen und außen	„	Starke Reaktion (schwarzer Niederschlag)	38,5 „	14,0 „	14,2 „	25,6 „
	II	1	2½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb, matter Glanz	Sofort deutliche Reaktion (dunkelbraune Färbung)	2,2 mg	1,8 mg	0,4 mg	0,9 mg
		2	2½ Liter, Glasur: innen und außen	„	Sofort sehr deutliche Reaktion (schwarzer Niederschlag nach kurzem Stehen)	6,8 „	3,7 „	1,2 „	2,7 „
		3	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	—	—	—	—	—
	III	1	—	—	—	—	—	—	—
		2	—	—	—	—	—	—	—
		3	2½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb	Sofort sehr deutliche Reaktion (schwarzer Niederschlag nach kurzem Stehen)	4,4 mg	3,7 mg	3,3 mg	1,8 mg
		4	1½ Liter, Glasur: innen und außen	„	Sofort sehr deutliche Reaktion (schwarzer Niederschlag)	8,6 „	5,7 „	2,9 „	5,7 „

Beurteilung der Geschirre von seiten des Töpfers	Bratpfannen: Beschreibung der Bratpfannen	Aussehen der Glasur	Ausfall der gesetzlichen Prüfung bei dem Nachweis des gelösten Bleis durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Kochflüssigkeit	Ausfall der genauen Ermittelung der gelösten Bleimengen bei 3 aufeinander folgenden Auskochungen: I	II	III	Die bei der 1. Auskochung gelösten Bleimengen, bezogen auf 1 l Gefäßinhalt	Beurteilung der Geschirre von seiten d. Töpfers
zu stark gebrannt – verkäufliche Ausschußware	—	—	—	—	—	—	—	
zu stark gebrannt – verkäufliche Ausschußware	—	—	—	—	—	—	—	
zu stark gebrannt	800 ccm Inhalt, Glasur: innen	Grün	Kaum sichtbare Reaktion (lichtgelbe Färbung)	0,2 mg	0,05 mg	0	0,2 mg	zu stark gebrannt – verkäufliche Ausschußware
zu stark gebrannt	700 ccm Inhalt, Glasur: innen	Gelb	„	0,2 „	0,1 „	0	0,3 „	zu stark gebrannt – verkäufliche Ausschußware
zu schwach gebrannt	—	—	—	—	—	—	—	
zu schwach gebrannt	—	—	—	—	—	—	—	
zu schwach gebrannt – unverkäuflich, müssen nochmals glasiert und gebrannt werden	—	—	—	—	—	—	—	
zu schwach gebrannt – unverkäuflich, müssen nochmals glasiert und gebrannt werden	—	—	—	—	—	—	—	
zu schwach gebrannt	700 ccm Inhalt, Glasur: innen	Gelb	Sofort deutliche Reaktion (dunkelbraune Färbung)	2,1 mg	0,9 mg	0,6 mg	2,9 „	zu schwach gebrannt – unverkäuflich, müssen nochmals schwach glasiert u. wieder gebrannt werden
zu schwach gebrannt	2½ Liter, Glasur: innen	„	Sofort sehr deutliche Reaktion (schwarzer Niederschlag nach kurzem Stehen)	4,4 „	1,7 „	0,9 „	1,7 „	zu schwach gebrannt – unverkäuflich, müssen nochmals schwach glasiert u. wieder gebrannt werden
zu schwach gebrannt	2 Liter, Glasur: innen	Gelb	Sofort deutliche Reaktion (dunkelbraune Färbung)	2,3 mg	0,7 mg	0,3 mg	1,1 mg	müssen ein 2. Mal gebrannt werden
zu schwach gebrannt	1 Liter, Glasur: innen	„	Deutliche Reaktion (braune Färbung)	1,8 „	1,2 „	0,3 „	1,8 „	müssen ein 2. Mal gebrannt werden
muß ein zweites Mal gebrannt werden	—	—	—	—	—	—	—	
einigermaßen gut geraten, kann dem Aussehen nach verkauft werden	—	—	—	—	—	—	—	

Bezeichnung des Brandes der Geschirre und Stand derselben im Ofen	Bezeichnung der Geschirre nach ihrer Herkunft		Kochtöpfe: Beschreibung der Töpfe	Kochtöpfe: Aussehen der Glasur	Kochtöpfe: Ausfall der gesetzlichen Prüfung bei dem Nachweis des gelösten Bleis durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Kochflüssigkeit	Ausfall der genauen Ermittelung der gelösten Bleimengen bei 3 aufeinander folgenden Auskochungen: I	II	III	Die bei der 1. Auskochung gelösten Bleimengen, bezogen auf 1 l [illegible]
Beim 1. Brand zu stark gebrannt, nochmals an bester Stelle (Mitte) des Ofens gebrannt	Töpferei I	1	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Grün	Sehr schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,6 mg	0	—	0,4 mg
		2	1½ Liter, Glasur: innen und außen	„	„	0,3 „	0,1 mg	0	0,2 „
	II	1	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Grün	Deutliche Reaktion (hellbraune Färbung)	1,1 mg	0,7 mg	0,2 mg	0,7 mg
		2	3 Liter, Glasur: innen und außen	„	„	1,8 „	0,9 „	0,6 „	0,6 „
	III	1	4 Liter, Glasur: innen	Grün	Deutliche Reaktion (hellbraune Färbung)	1,1 mg	0,9 mg	0,3 mg	0,3 mg
		2	4 Liter, Glasur: innen	„	„	1,2 „	1,0 „	0,7 „	0,3 „
Zum ersten Male zu schwach gebrannt; nochmals an der besten Stelle (Mitte) des Ofens gebrannt	I	1	—	—	—	—	—	—	—
		2	—	—	—	—	—	—	—
		3	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb	Sehr schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,3 mg	0	—	0,2 mg
		4	1½ Liter, Glasur: innen und außen	„	Sofort deutl. Reaktion (dunkelbraune Färbung)	2,3 „	0,6 mg	0	1,5 „
	II	1	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Grün	Schwache Reaktion (bräunliche Färbung)	0,9 mg	0,3 mg	0,1 mg	0,6 mg
		2	2½ Liter, Glasur: innen und außen	„	„	0,9 „	0,7 „	0,3 „	0,4 „
		3	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb	Sofort deutl. Reaktion (dunkelbraune Färbung)	1,8 „	1,0 „	1,0 „	1,2 „
		4	—	—	—	—	—	—	—
	III	1	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelbbraun	Deutliche Reaktion (braune Färbung)	1,5 mg	0,9 mg	0,9 mg	1,0 mg
		2	1½ Liter, Glasur: innen und außen	Gelb	Schwache Reaktion (bräunliche Färbung)	0,7 „	0,3 „	0,1 „	0,5 „
		3	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	—	—	—	—	—

Beurteilung der Geschirre von seiten des Töpfers	Bratpfannen							
	Beschreibung der Bratpfannen	Aussehen der Glasur	Ausfall der gesetzlichen Prüfung bei dem Nachweis des gelösten Bleis durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Kochflüssigkeit	Ausfall der genauen Ermittelung der gelösten Bleimengen bei 3 aufeinander folgenden Auskochungen			Die bei der 1. Auskochung gelösten Bleimengen, bezogen auf 1 l Gefäßinhalt	Beurteilung der Geschirre von seiten d. Töpfers
				I	II	III		
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
Ausschuß, unverkäuflich	—	—	—	—	—	—	—	
„	—	—	—	—	—	—	—	
	2 Liter, Glasur: innen	Gelb	Kaum sichtbare Reaktion (licht gelbe Färbung)	0,2 mg	0,1 mg	0	0,1 mg	
	2 Liter, Glasur: innen	„	Schwache Reaktion (gelbliche Färbung)	0,6 „	0,4 „	0	0,3 „	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	
	1½ Liter, Glasur: innen	Gelb	Sofort deutl. Reaktion (dunkelbraune Färbung)	2,3 mg	0,4 mg	0,6 mg	1,5 mg	
Beim 1. Brande zu schwach gebrannt, ein 2. Mal glasiert und gebrannt; gut geraten	—	—	—	—	—	—	—	
Beim 1. Brande zu schwach gebrannt, ein 2. Mal gebrannt; gut geraten	—	—	—	—	—	—	—	
	2½ Liter, Glasur: innen	Gelb	Sofort deutl. Reaktion (dunkelbraune Färbung)	2,5 mg	1,4 mg	0,5 mg	1,0 mg	unverkäuflich; müßten ein 2. Mal gebrannt werden
	2½ Liter, Glasur: innen	„	„	2,9 „	1,5 „	0,8 „	1,2 „	

Aus den in der Tabelle Seite 241 zusammengestellten Zahlen folgt, daß durch die Bestimmung sowohl der überschüssigen Kaliumbichromatlösung als auch des Niederschlages von Bleichromat eine zuverlässige Ermittelung der in Lösung gegangenen Bleimengen möglich ist. Die gleichzeitige Anwendung der beiden Verfahren empfiehlt sich aus dem Grunde, weil hierdurch eine Kontrolle für die Ausführung der Titration gewonnen wird und der gefundene Mittelwert durchschnittlich noch etwas geringere Abweichungen von dem wahren Bleigehalt zeigt, als die beiden Einzelwerte.

Das Ergebnis der Prüfung der Geschirre.

Die Geschirrproben wurden einer dreimaligen Auskochung in der bereits erwähnten Weise unterzogen, worauf der Nachweis des von der Essigsäure gelösten Bleis wie folgt stattfand. Von der bei der ersten Auskochung erhaltenen und vorher gemessenen Flüssigkeit wurde ein Teil von 10 ccm zur Ausführung der Schwefelwasserstoffprobe entnommen. In dem Rest wurden die gelösten Bleimengen nach dem Prüfungsverfahren b) 2. genau ermittelt und auf die gesamte Flüssigkeit berechnet. Bei der zweiten und dritten Auskochung wurde die gesamte durch das Kochen erhaltene Lösung zur genauen Feststellung des Bleigehaltes nach Prüfungsverfahren b) 2. verwendet.

Die einzelnen Ergebnisse sind in den vorstehenden Tabellen (Seite 242—247) enthalten. Von diesen ist hervorzuheben, daß sämtliche untersuchten Proben beim $^1/_2$stündigen Kochen an den 4$^0/_0$igen Essig Blei abgaben. Die Bleiabgabe der zu schwach gebrannten Geschirre war zum Teil auffallend hoch gegenüber allen übrigen Proben, bei denen sie gering war und in keiner erkennbaren Weise mit der Art des Brennens zusammenhing.

Durch wiederholtes Auskochen der Geschirre wurde die Bleiabgabe der Glasur in bemerkenswerter Weise vermindert, jedoch genügte ein einmaliges Auskochen nicht, um die Bleiabgabe der Glasur vollständig zu beseitigen.

Was die Angabe der Tabelle hinsichtlich der Bleiabgabe der Gefäße bezogen auf 1 Liter Rauminhalt anbelangt, so mag hervorgehoben werden, daß diese Zahlen nur bedingungsweise miteinander vergleichbar sind, da je nach der Form der Gefäße das Verhältnis von Rauminhalt und Oberfläche der Gefäße Schwankungen unterliegt.

4. Schlußfolgerungen für die Herstellung und Beurteilung der untersuchten Kochgeschirre.

Die Frage, ob die Abgabe geringer Bleimengen bei gut geratenen oder noch als verkäuflich zu bezeichnenden Irdengeschirren vollständig vermieden werden kann, muß nach dem Ergebnis der vorstehend beschriebenen Untersuchungen für die untersuchten Geschirre verneint werden. Ob bei der Verwendung anderer Töpfertone, welche etwa bei geeigneterer chemischer Zusammensetzung eine wesentlich höhere Brenntemperatur zulassen, eine noch größere oder gar vollständige Widerstandsfähigkeit der bleihaltigen Glasuren erreicht werden könnte, muß einstweilen dahingestellt bleiben, zumal nicht die chemischen Eigenschaften der Glasurmasse allein, sondern bei den aufgebrannten Glasuren auch die rein äußerliche Beschaffenheit der Glasuroberfläche

von großer Bedeutung für die Angreifbarkeit der Glasur ist. Für die gesundheitliche Beurteilung der untersuchten Geschirre ist es von Bedeutung, daß übereinstimmend mit den übrigen an den Glasuren gemachten Erfahrungen die geringe Bleiabgabe der Glasur der Kochgeschirre bei mehrfachem Auskochen mit sauren Flüssigkeiten abnimmt und schließlich im praktischen Sinne verschwindet.

Der Nachweis des Bleis mit Hilfe einerseits der Schwefelwasserstoffprobe, anderseits des quantitativen Bestimmungsverfahrens fiel stets in gleichem Sinne aus. Wenn man von den zu schwach gebrannten Geschirren absieht, so trat bei der Schwefelwasserstoffprobe entsprechend den geringen vorhandenen Bleimengen nur eine mehr oder weniger starke Färbung der Kochflüssigkeit ein, und, da ein solcher Bleinachweis sehr verschieden beurteilt werden kann, muß dahingestellt bleiben, ob derselbe in allen Fallen den Grund zur Beanstandung der Geschirre gebildet haben würde. Ein schärferes Bild von dem Verhalten der einzelnen Proben bieten die genauen Bleibestimmungen. Hiernach betrug die Bleiabgabe der Geschirre, von den zu schwach gebrannten abgesehen, im Höchstfalle 1,5 mg auf 1 Liter Gefäßinhalt, in der überwiegenden Mehrzahl jedoch weniger als 1 mg. Mit der Abgabe derartig geringer Bleimengen, die sich im übrigen bei der Benutzung der Geschirre noch vermindern, wird man bei der gesundheitlichen Beurteilung der glasierten Geschirre, sofern hierdurch eine Vermittelung zwischen dem technisch Erreichbaren und dem hygienisch Wünschenswerten angestrebt wird, rechnen müssen.

Auffallend hoch sowie stark voneinander abweichend sind die seitens der zu schwach gebrannten Geschirre abgegebenen Bleimengen, sodaß im Interesse der menschlichen Gesundheit diese Geschirre unter allen Umständen vom Verkehr ferngehalten werden müßten. Der Grund für das ungenügende Brennen dieser Geschirre liegt darin, daß die Temperatur in den Brennöfen an manchen Stellen zu niedrig sein kann. Die Auswahl der dort aufgestellten Geschirre müßten die Töpfer mit der entsprechenden Sorgfalt treffen und die leicht an dem geringen Glanz und der rauhen, unfertigen Beschaffenheit der Glasur erkennbaren nicht genügend gebrannten Geschirre vom Verkauf ausschließen.

Zur Frage des Vorkommens von sogenannten Fleischvergiftungserregern in Pökelfleischwaren.

Von

Professor **Dr. Zwick**, Regierungsrat und **Dr. Weichel**, Hilfsarbeiter

im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

In einer vor kurzer Zeit erschienenen Arbeit[1]) berichten Mühlens, Dahm und Fürst, daß es ihnen durch Fütterungsversuche an weißen Mäusen gelungen sei, in gepökelten und geräucherten, der Mehrzahl nach anscheinend einwandfreien Fleischwaren verhältnismäßig häufig Bakterien der Enteritis-Gärtner- und Enteritis-Flügge-Gruppe nachzuweisen. Zu ihren Versuchen hatten sie insgesamt 57 Fleischproben benutzt, und zwar Gänsebrust, Gänsepökelkeule, rohen und gekochten Schinken, Bücklinge und geräucherten Lachs. Die Proben stammten aus verschiedenen Fleischläden des Nordens und Nordwestens von Berlin, und es befanden sich unter ihnen auch einige, die schon verdorben waren oder längere Zeit gelegen hatten. Bei der Verfütterung solcher Fleischwaren ging nun eine größere Zahl, über 80 %, der Versuchsmäuse ein und zeigte in der Regel einen charakteristischen Befund (ödematöse Durchtränkung der Darmserosa, auch Meteorismus des Darmes, Schwellung der Milz und Leber, Vorhandensein stecknadelknopfgroßer oder noch größerer gelber Knötchen in diesen beiden Organen, mitunter geringe Exsudate in Brust- und Bauchhöhle). In den Organen der gestorbenen Tiere fanden sich meistens Bazillen der einen oder andern Enteritis-Gruppe. Der in jedem Fall angestellte Versuch, die Bakterien direkt aus dem Fleische durch Züchtung zu gewinnen, ist mißlungen, auch wenn das Material nicht unmittelbar, sondern nach einer Behandlung, die eine Anreicherung begünstigt hätte, auf die Platten ausgestrichen wurde. Trotzdem sind Mühlens, Dahm und Fürst, allerdings unter Vorbehalt, geneigt, als Infektionsquelle der Mäuse das Fleisch anzusehen und aus dem Ergebnis ihrer Versuche den Schluß zu ziehen, daß die erwähnten Bakterien auch in anscheinend normalen Fleischarten, namentlich in ungekochtem Schweine- sowie Gänsepökelfleisch vorkommen. Wenn auch derartiges Fleisch beim Genuß für Menschen unschädlich sei, so vermöge es doch eine für Mäuse tödliche Infektion zu veranlassen. Ferner könne es, falls die im Fleisch enthaltenen Bakterien

[1]) Zentralblatt für Bakteriologie, Orig. Bd. XLVIII, H. 1. Oktober 1908.

günstige Bedingungen zur Vermehrung erhielten, zu den bekannten Fleischvergiftungen kommen.

Obwohl bei diesen, in ihren Ergebnissen kurz wiedergegebenen Untersuchungen versucht worden ist, durch Anwendung aller Kautelen ein einwandfreies und eindeutiges Ergebnis zu sichern, so können sie eine volle Überzeugungskraft doch nicht für sich in Anspruch nehmen. Für die Schlüssigkeit der von Mühlens, Dahm und Fürst ausgeführten Untersuchungen scheint zwar der Umstand zu sprechen, daß bei den mit einer und derselben Fleischprobe gefütterten Mäusen stets die nämlichen Bakterien, also entweder ein Angehöriger der Enteritisgruppe I oder der Enteritisgruppe II gefunden wurde. Zwei Widersprüche bleiben unseres Erachtens aber bestehen: Der eine liegt darin, daß sich in einer verhältnismäßig großen Zahl anscheinend einwandfreier, käuflicher Fleischwaren Bakterien der sogenannten Fleischvergiftungen vorfinden sollen, während doch ein solcher Befund nach den Erfahrungen der bakteriologischen Fleischbeschau zu den verhältnismäßig seltenen Ausnahmefällen gehört und nur bei gewissen Krankheiten der Schlachttiere beobachtet wird. Da die Bakterien anscheinend im Innern der Fleischstücke gefunden wurden, konnte auch eine nachträgliche Verunreinigung, wie sie bei den Feststellungen der Bakterien von Uhlenhuth und Hübener in Würsten als möglich anzunehmen war, nicht in Betracht kommen. Sodann würde die Auffassung, daß der Impfversuch ein zuverlässigeres Hilfsmittel für den Nachweis von Enteritis-Bakterien im Fleisch sei als das Kulturverfahren, der bisher allseits geteilten Ansicht nicht entsprechen, wonach das Wachstumsvermögen der Bakterien länger erhalten bleibt als die Infektiosität, die Kultur also ceteris paribus mehr Aussicht auf Erfolg für den Nachweis von Bakterien hat als der Infektionsversuch.

Diese bezeichneten Widersprüche aufzuklären und gleichzeitig festzustellen, ob den von Mühlens, Dahm und Fürst gewonnenen Untersuchungsergebnissen eine allgemeine Bedeutung, namentlich mit Hinsicht auf die Zuverlässigkeit der Fleischbeschau zukommt, war der Zweck der von uns angestellten Nachprüfungen. Bemerkt sei, daß Mühlens, Dahm und Fürst selbst auf die Möglichkeit einer Fehlerquelle bei den von ihnen ausgeführten Untersuchungen hingewiesen haben, indem sie mitteilten, daß sie bei einer spontan eingegangenen Kontrollmaus eine Infektion mit Bakterien von Typus Enteritidis II festgestellt haben. Auch aus zwei andern angeführten Beobachtungen folgerten die Forscher, daß bei Mäusen zweifellos anscheinend spontane Infektionen mit Enteritis-Bakterien (Typus I u. II) vorkommen.

Untersuchungsmaterial und Methode der Untersuchung.

Es galt in erster Linie, solche Fleischwaren auszuwählen, die nach den Untersuchungen von Mühlens, Dahm und Fürst als verdächtig angesehen werden mußten, Enteritis-Bazillen zu beherbergen, also besonders Gänsebrust, rohen Schinken, Schweinerippe, Gänsepökelkeule, geräucherte Ochsenzunge und Schweinepökelfleisch. Die zu unsern Versuchen benutzten 70 Fleischproben stammten aus ebensovielen Fleischläden von Berlin N. und O. und den Vororten Groß-Lichterfelde, Steglitz, Schöneberg und Friedenau. Wir bevorzugten die kleineren Fleischläden, in denen der

Verkauf kein besonders reger ist und die Fleischwaren längere Zeit liegen bleiben. Einige der Fleischproben zeigten Merkmale der beginnenden Zersetzung.

In solchen Proben hofften wir die inkriminierten Bakterien anzutreffen, wenn diese etwa nachträglich mit den typischen Zersetzungsbakterien durch Verunreinigung in das Fleisch gelangen könnten. Die Fleischproben verblieben während ihrer Untersuchung in der Umhüllung, in der sie ins Laboratorium verbracht worden waren. Samt dieser Umhüllung wurden sie zur weiteren Aufbewahrung in Pergamentpapier verpackt. Um eine nachträgliche Infektion der angekauften Fleischproben zu vermeiden, wurden sie nur mit sterilen Instrumenten angefaßt.

Die bakteriologische Untersuchung geschah in jedem Einzelfalle nach versuchter Anreicherung. Ein etwa einmarkstückgroßes und -dickes Stück der Fleischprobe wurde zunächst in ein Röhrchen mit steriler Bouillon gebracht. Nach 24stündigem Verweilen im Brutschrank wurden mehrere Ösen des Röhrcheninhalts auf eine Drigalski- und eine Löfflersche Malachitgrünplatte ausgestrichen. Jede auf diesen Platten aufgegangene Kolonie, die auch nur annähernd an das typische Wachstum der Enteritis-Bazillen erinnerte, wurde unmittelbar, oder — zur sicheren Gewinnung einer Reinkultur — nach nochmaliger Plattenaussaat auf Schrägagar übertragen, um alsdann mittels der Agglutination auf die Zugehörigkeit zu einer der Enteritisgruppen geprüft zu werden. Zu dieser Prüfung fand ein Mischserum Verwendung, das durch Vereinigung gleicher Mengen eines Enteritis-Gärtner und eines Paratyphus B-Serums hergestellt worden war. Jedes dieser Sera hatte einen Titer von 1 : 8000. Durch Kontrollen an Misch- und Einzelkulturen der genannten Bakterien wurde die Wirksamkeit der vor jeder Agglutination frisch hergestellten Serummischung sichergestellt. War mit dem Mischserum ein positives Agglutinationsergebnis erzielt worden, so wurden durch die darauf folgenden Agglutinationsprüfungen unter Verwendung von Einzelsera der nähere Aufschluß über die Zugehörigkeit des Stammes zum einen oder anderen Enteritistypus herbeigeführt.

Neben den Züchtungsversuchen gingen Fütterungsversuche an weißen Mäusen einher. Die Fütterung der weißen Mäuse mit den Fleischproben wurde teils nur zwei bis drei Mal, in anderen Fällen bis zu zehn Mal vorgenommen. In der Regel ging der Fleischfütterung ein zweitägiges Fasten voraus, um die Tiere freßgieriger zu machen und sie zur Aufnahme einer möglichst großen Fleischmenge zu veranlassen. Im übrigen bestand die Nahrung der Mäuse nach Beendigung der Fleischfütterung aus Brot und Hafer.

Von jeder gestorbenen Maus wurde durch Ausstreichen von möglichst viel Gewebe und Organmaterial sowie Darminhalt auf Malachitgrün- und Drigalskiplatten der Nachweis von Enteritis-Bazillen zu erbringen versucht. Das Herzblut wurde in der Weise kulturell verwertet, daß das Herz mit einer Pinzette im Bereich der Basis von seiner Befestigung losgerissen und alsdann der Inhalt der eröffneten Vorkammern und Kammern auf die Platten ausgestrichen wurde. Milz und Nieren wurden in toto mit der Pinzette erfaßt, zwischen deren Schenkeln gequetscht und der so entstehende Organbrei zum Ausstrich benutzt. Von der Leber wurde ein möglichst großes Stück losgelöst und die Bruchfläche auf den Platten verrieben. Endlich wurde noch der Inhalt von verschiedenen Abschnitten des Darmes mit der Öse entnommen und auf die Platten übertragen.

Mühlens, Dahm und Fürst haben auf die Möglichkeit hingewiesen, daß u. a. Bazillen vom Charakter der Enteritis-Bazillen auch im virulenten Zustande den Mäusegläsern anhaften können. Sie ließen daher die Gläser vor ihrer Verwendung sorgfältig sterilisieren. Wir waren in der Lage, zu unseren Fütterungsversuchen fast ausschließlich Mäusegläser verwenden zu können, die überhaupt noch nicht in Gebrauch genommen worden waren. Bereits benutzt gewesene Gläser wurden vor ihrem Gebrauch sorgfältig sterilisiert.

Da wir es mit Mühlens, Dahm und Fürst nicht für ausgeschlossen hielten, daß in dem Darm gesunder Mäuse Enteritis-Bazillen und deren Verwandte vorkommen können, untersuchten wir an zwei der Fleischfütterung unmittelbar vorangehenden Tagen den Kot einer jeden Maus auf die Anwesenheit derartiger Bakterien. Diese Untersuchung geschah in der Weise, daß die Tiere am Schwanz festgehalten und durch Klemmen des Schwanzes oder durch leichten Druck auf den Hinterleib zum Absetzen von Kot veranlaßt wurden; sehr häufig erfolgte der Kotabsatz spontan. Der Kot wurde vom After weg mit der zuvor ausgeglühten und noch warmen Platinnadel, an der er leicht anklebte, aufgefangen und in sterile Bouillon verbracht. Nach 24stündiger Bebrütung des Röhrcheninhalts wurden davon einige Ösen entnommen und auf je eine Löfflersche Grünplatte und eine Drigalskiplatte ausgestrichen.

In einigen Versuchsreihen haben wir auch, um die Wirkung sterilisierter Fleischstücke der zu den Versuchen verwandten Sorten auf den Mäusekörper kennen zu lernen, die eine Hälfte der Fleischprobe nach zweistündigem Erhitzen im strömenden Dampf bei einer Temperatur von 98—100 ° C verfüttert. Die nachstehende Tabelle (S. 254—258) enthält eine Zusammenstellung der untersuchten Fleischwaren, des Ergebnisses ihrer kulturellen Untersuchung und ihrer Verfütterung an weiße Mäuse. Die Bestimmung des Kochsalzgehaltes hat in dankenswerter Weise Herr Dr. Wedemann übernommen.

Ergebnis der kulturellen Untersuchung.

Die Versuche, Enteritis-Bazillen durch das Kulturverfahren in den Fleischproben nachzuweisen, führten zu einem durchaus negativen Ergebnis.

In dieser Hinsicht besteht also eine völlige Übereinstimmung mit dem von Mühlens, Dahm und Fürst erzielten Resultat. Die mit dem Untersuchungsmaterial beschickten Drigalski- und Malachitgrünplatten blieben in einigen Fällen ganz steril, namentlich war dies bei den Malachitgrünplatten der Fall; in anderen Fällen gingen auf den Grünplatten Kolonien auf, die den Nährboden nicht veränderten und deshalb als atypische außer Betracht bleiben konnten. Zuweilen fanden sich aber auf ihr Kolonien, die den Nährboden aufhellten, gelb färbten und hierdurch, sowie durch ihr sonstiges Aussehen an das Wachstum von Enteritis-Bazillen erinnerten. Die Vermutung, daß solche Bakterien vorliegen können, wurde aber in keinem Fall durch die genauere kulturelle Prüfung und die Agglutination bestätigt. Auf den Drigalskiplatten gingen öfters hellblaue Kolonien auf (Mono- und Diplokokken), ferner graubläuliche, die das Bestreben zeigten, sich in der Fläche auszudehnen (proteusähnliche Bakterien). Außerdem wurden in manchen Fällen kleine, bläuliche, glattrandige Kolonien angetroffen (Streptokokken), endlich nicht selten Bakterien vom Coli-Typus.

Tabelle I. [1])

Laufende Nr.	Bezeichnung der Fleischprobe	Anzahl der Fleischfütterungen	Ergebnis der Fleischfütterung	Ergebnis der kulturellen Untersuchung		Kochsalzgehalt der Fleischprobe	Bemerkungen
				a) des Fleisches	b) der Mäuse		
1	Schweinepökelfleisch	6	Ms.[2]) 1 †[3]) nach 8 Tagen[4]), Ms. 2 bleibt am Leben	—[5])	—	7,71 %	
2	Gänsepökelkeule	9	Ms. 1 wurde von ihrer Genossin aufgefressen, Ms. 2 † nach 3 Tagen	—	—	9,20 „	
3	Schweinepökelfleisch	4	Ms. 1 und 2 † nach 4 Tagen	—	—	2,16 „	
4	„	7	Ms. 1 † nach 5 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
5	Gekochter Schinken	4	Ms. 1 † nach 4 Tagen, Ms. 2 † nach 5 Tagen	—	—	4,68 „	
6	Schweinepökelfleisch	2	Ms. 1 und 2 † nach 4 Tagen	—	—	12,52 „	
7	Gekochter Schinken	4	Ms. 1 † nach 2 Tagen, Ms. 2 † nach 9 Tagen	—	—	9,24 „	
8	Gänsebrust	4	Beide Mäuse † nach 6 Tagen	—	—	8,07 „	
9	Gekochter Schweinebraten	4	Ms. 1 wurde am 4. Tage von ihrer Genossin angefressen vorgefunden, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	1,40 „	
10	Roher Schinken	8	Ms. 1 † nach 2 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
11	Gänsebrust	5	Ms. 1 † nach der 3. Fütterung, Ms. 2 † nach 12 Tagen	—	—	—	
12	Gekochter Schinken	3	Ms. 1 † nach 6 Tagen, Ms. 2 † nach 8 Tagen	—	—	—	
13	Gänsebrust	3	Ms. 1 † nach 7 Tagen, wurde von Ms. 2 fast vollständig aufgefressen, Ms. 2 † nach 10 Tagen	—	—	13,27 „	
14	„	3	Ms. 1 † nach 6 Tagen, Ms. 2 † nach 7 Tagen	—	—	7,79 „	

[1]) Mit jeder Fleischprobe wurden 2 Mäuse gefüttert.
[2]) Ms. = Maus.
[3]) † = gestorben.
[4]) Die Zahl der Tage bis zum Todeseintritt ist von der ersten Fleischfütterung ab berechnet.
[5]) — Keine Enteritis-Bazillen.

Laufende Nr.	Bezeichnung der Fleischprobe	Anzahl der Fleischfütterungen	Ergebnis der Fleischfütterung	Ergebnis der kulturellen Untersuchung		Kochsalzgehalt der Fleischprobe	Bemerkungen
				a) des Fleisches	b) der Mäuse		
15	Gänsebrust	3	Ms. 1 † nach der 2. Fütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	9,24 %	
16	Roher Schinken	2	Beide Mäuse † nach 6 Tagen	—	—	9,59 „	
17	Karbonadenfleisch, gepökelt	2	Ms. 1 † nach 6 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	7,49 „	
18	Schweinefleisch, gepökelt	2	Ms. 1 † nach 6 Tagen	—	—	4,27 „	
19	Gänsebrust	3	Beide Mäuse † nach 6 Tagen	—	—	—	
20	Gekochter Schinken	3	Beide Mäuse † nach 5 Tagen	—	—	7,14 „	
21	Roher Schinken	3	Beide Mäuse † nach 4 Tagen, Ms. 1: Schwellung der Milz und Leber	Auf der Drigalskiplatte gingen aus den Organen u. dem Darm von Ms. 1 blaue, auf der Malachitgrünplatte gelbe Kolonien auf	—	11,82 „	
22	Schweinefleisch, gepökelt	7	Ms. 1 † nach 9 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	7,72 „	
23	Schweinefleisch, mit Schimmel überzogen	5	Ms. 1 † nach 6 Tagen, Ms. 2 † nach 8 Tagen	—	—	7,96 „	
24	Roher Schinken	2	Beide Mäuse † nach 5 Tagen	—	—	11,00 „	
25	Schweinepökelfleisch	8	Ms. 1 † nach 2 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	5,26 „	
26	Gänsepökelkeule	3	Ms. 1 † nach 5 Tagen, Ms. 2 † nach 6 Tagen	—	—	11,58 „	
27	Gänsebrust	5	Ms. 1 † nach 6 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	8,66 „	
28	Schweinepökelrippen (von einem schmierigen Belag bedeckt und sehr übelriechend)	4	Ms. 1 und 2 † nach 6 Tagen	—	—	5,04 „	
20a	—	4	Beide Mäuse bleiben am Leben	—	—	—	
21a	—	5	Beide Mäuse † nach 2 Tagen	—	—	—	
22a	—	4	Ms. 1 † nach 2 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	

Laufende Nr.	Bezeichnung der Fleischprobe	Anzahl der Fleischfütterungen	Ergebnis der Fleischfütterung	Ergebnis der kulturellen Untersuchung a) des Fleisches	b) der Mäuse	Kochsalzgehalt der Fleischprobe	Bemerkungen
23a	—	4	Ms. 1 † nach 2 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	Befund wie bei 21	—	Vergl. Nr. 21.
24a	—	4	Ms. 1 † nach 1maliger Fütterung, Ms. 2 † nach 3 Tagen	—	—	—	
25a	—	4	Ms. 1 † nach 4 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
26a	—	2	Beide Mäuse † nach 1 Tag	—	—	—	
27a	—	4	Ms. 1 † nach 2 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
28a	—	4	Beide Mäuse bleib. am Leben	—	—	—	
29	Rohes Schweinefleisch	—	—	—	—	—	
30	„	—	—	—	—	—	
31	Gänsepökelbrust	7	Ms. 1 † nach der 2. Fütterung, Ms. 2 nach der 7.	—	—	13,2 %	
32	Roher Schinken	6	Ms. 1 † nach der 5. Fütterung, Ms. 2 † nach 1 Tag	—	—	7,17 „	
33	Schweinepökelfleisch	3	Beide Mäuse † nach 1 Tag	—	—	6,35 „	
34	Roher Schinken	5	Ms. 1 angefressen von Ms. 2, Ms. 2 † nach 3 Tagen	—	—	9,94 „	
35	Gänsebrust	4	Beide Mäuse † nach 3 Tagen	—	—	12,58 „	
36	Schweinepökelfleisch	4	Beide Mäuse † nach 2 Tagen	—	—	5,94 „	
37	Roher Schinken	9	Ms. 1 † nach der 3. Fütterung, aufgefressen von Maus 2, Ms. 2 † nach 2 Tagen	—	—	3 „	
38	Schweinepökelfleisch	8	Ms. 1 † nach der 4. Fütterung, Ms. 2 † nach 1 Tag	—	—	6,69 „	
39	Schweinepökelschinken	4	Ms. 1 † nach der 3. Fütterung, Ms. 2 † 3 Tage nach der 4. Fütterung	—	—	4,96 „	
40	„	4	Ms. 1 † nach der 3. Fütterung, Ms. 2 † nach 3 Tagen	—	—	7,73 „	

Laufende Nr.	Bezeichnung der Fleischprobe	Anzahl der Fleischfütterungen	Ergebnis der Fleischfütterung	Ergebnis der kulturellen Untersuchung a) des Fleisches	b) der Mäuse	Kochsalzgehalt der Fleischprobe	Bemerkungen
41	Gekochter Schinken	4	Beide Mäuse bleib. am Leben	—	—	7,65 %	Die Mäuse 41—50 wurden 2 mal an 2 Tagen mit der Fleischprobe gefüttert und zwar nach vorausgegangenem 2 tägigem Fasten. Die zweite Fütterung begann 3 Tage nach Beendigung der ersten.
42	„	4	„	—	—	7,72 „	
43	Roher Schinken	4	„	—	—	8,42 „	
44	„	4	„	—	—	14,97 „	
45	Gänsepökelbrust	4	„	—	—	12,58 „	
46	„	4	„	—	—	9,24 „	
47	„	4	„	—	—	8,66 „	
48	„	4	„	—	—	11,12 „	
49	„	4	„	—	—	8,66 „	
50	„	4	„	—	—	11,68 „	
51	Roher Schinken	2	„	—	—	—	
52	„	2	Ms. 1 † nach 6 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
53	„	2	Ms. 1 † nach 3 Tagen, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
54	„	2	Beide Mäuse bleib. am Leben	—	—	—	
55	„	2	„	—	—	—	
56	„	—	Beide Mäuse † vor der Fleischfütterung	—	—	—	
57	Rinderpökelzunge (alt)	—	—	—	—	—	
58	„	2	Ms. 1 † am 1. Tag der Fütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	8,72 „	
59	Roher Schinken (frisch)	2	Beide Mäuse bleib. am Leben	—	—	14,33 „	
60	„	2	Ms. 1 † vor der Fleischfütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
61	„	1	Ms. 1 † vor der Fleischfütterung, Ms. 2 † am 1. Fütterungstage	—	—	—	
62	Rinderpökelzunge (frisch)	2	Ms. 1 † vor der Fleischfütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
63	Rinderpökelzunge (alt)	1	Ms. 1 u. 2 † am Tage nach der 1. Fütterung	—	—	—	
64	„	2	Ms. 1 † vor der Fleischfütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	—	
65	Roher Schinken (frisch)	2	Beide Mäuse † am 2. Fütterungstage	—	—	—	

Laufende Nr.	Bezeichnung der Fleischprobe	Anzahl der Fleischfütterungen	Ergebnis der der Fleischfütterung	Ergebnis der kulturellen Untersuchung		Kochsalzgehalt der Fleischproben	Bemerkungen
				a) des Fleisches	b) der Mäuse		
66	Roher Schinken, frisch	2	Ms. 1 † vor der Fleischfütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—		
67	Rinderpökelzunge, alt	—	Beide Mäuse † vor der Fütterung	—	—	10,14 %	
68	Roher Schinken, frisch	2	Ms. 1 † vor der Fleischfütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—	12,4 „	
69	„	2	Ms. 1 stirbt vor der Fleischfütterung, Ms. 2 bleibt am Leben	—	—		
70	„	2	Beide Mäuse bleiben am Leben	—	—	13,54 „	

Ergebnis der Fleischfütterung.

Unter den in 70 Versuchsreihen gefütterten 140 weißen Mäusen starben 85 = 60,7 %. Nur in zwölf Versuchen sind beide Mäuse am Leben geblieben. Hervorzuheben ist, daß mehrere Mäuse, insgesamt zehn, schon innerhalb oder nach Ablauf der zweitägigen Hungerfrist starben, ehe überhaupt mit der Fleischfütterung begonnen worden war.

Die Wirkung der Fleischfütterung auf die Mäuse war im übrigen recht verschieden. Bei einer größeren Zahl von Mäusen wirkte schon eine kurzdauernde, 2—3tägige Fleischfütterung tödlich, während andere selbst nach 8—10tägiger Aufnahme von Fleischnahrung am Leben blieben. Die Ursache der wechselnden Widerstandsfähigkeit der Mäuse dürfte weniger mit dem Fleisch und seiner besonderen Beschaffenheit zusammenhängen, als vielmehr in individuellen Verschiedenheiten der Resistenz des Mäusekörpers zu suchen sein. Denn es war wiederholt zu beobachten, daß von zwei in ganz gleicher Weise für die Fütterung vorbereiteten und mit derselben Fleischprobe gefütterten Mäusen die eine viel früher starb als die andere, oder daß die eine der beiden trotz längerer Fleischfütterung am Leben blieb, während die andere schon sehr frühzeitig einging. Bei ausschließlicher und ununterbrochener Verabreichung von Pökelfleisch war der Tod früher oder später die sichere Folge.

Die Erscheinungen bei den im Anschluß an die Fleischfütterung erkrankten Mäusen boten nichts Charakteristisches. Die Tiere blieben regungslos an einer Stelle sitzen; ihre Haare waren gesträubt, nicht selten stark durchnäßt, dem Körper glatt anliegend oder erschienen aufgebürstet und zu Strähnen verklebt. Sehr rasch machte sich bei den gefütterten Tieren Abmagerung bemerkbar. Bei manchen Tieren be-

stand Durchfall, wobei dünn-breiiger, grau- oder braungelber Kot abgesetzt wurde. Die Krankheitsdauer schwankte zwischen 2 und 14 Tagen. Die Tiere bekundeten stets ein auffallendes Hungergefühl nach vegetabilischer Nahrung, das sich darin äußerte, daß sich die nach einem Fleischfütterungsversuch überlebenden Tiere gierig auf die dargereichte, aus Brot und Hafer bestehende Nahrung stürzten. Gleichzeitig war zu beobachten, daß sie von dem Fleische, nachdem sie einige Male davon aufgenommen hatten, nur noch zögernd fraßen oder es gänzlich verschmähten. Nicht selten wurde eine Maus, obwohl noch von dem zur Fütterung bestimmten Fleisch im Glase vorhanden war, von ihrer Genossin aufgefressen.

Sektionsbefunde.

Häufig fiel an den Kadavern eine stark vorgeschrittene Fäulnis auf, selbst in Fällen, in denen die Sektion schon wenige Stunden nach dem Tode vorgenommen wurde. Wesentliche Veränderungen waren in der Regel an den Organen nicht wahrzunehmen. Das Dünndarmkonvolut glich oft einer braungelben bis braunroten sulzigen Masse, in der die einzelnen Darmschlingen nicht erkennbar waren; im Dünndarm fand sich gelbweißer bis gelbgrüner oder braunroter, schleimiger, im Dickdarm meist schwarzbrauner, mehr dickbreiiger Inhalt. Der Darm war bei einem Teil der gestorbenen Mäuse hyperämisch, bei anderen bestand eine mehr oder weniger starke entzündliche Rötung und Schwellung der Darmschleimhaut. Eine Schwellung der Milz war nur in wenigen Fällen zu beobachten, sie hielt sich, wenn vorhanden, in mäßigen Grenzen; meistens aber war dieses Organ auffallend klein, geschrumpft. An den übrigen, nicht erwähnten Organen war nichts Auffälliges zu bemerken; gelbe Flecke in der Leber, wie sie Mühlens, Dahm und Fürst bei ihren Versuchsmäusen in einem Teil der Fälle beobachteten, haben wir bei unsern mit Fleisch gefütterten nie gesehen.

Bei zwei Mäusen, von denen die eine mit der Fleischprobe 21, die andere mit der Probe 23a gefüttert worden war, fand sich eine deutliche Schwellung der Milz, eine Hyperämie der Leber und eine ausgesprochene Entzündung der Schleimhaut des Darmes.

Bakteriologische Befunde.

Bei zwei mit Fleisch gefütterten Mäusen ist es uns gelungen, Bakterien mit den Eigenschaften des Paratyphus-B-Bazillus nachzuweisen. Es war dies je eine Maus von zwei Versuchsreihen; in der einen war die Probe 21, in der andern die Probe 23a verfüttert worden. Die Bakterien zeigten in morphologischer und kultureller Hinsicht alle Merkmale der Paratyphus B-Bazillen und wurden auch von dem spezifischen Serum bis zur Titergrenze (1 : 8000) agglutiniert.

Nicht selten blieben die mit Organmaterial der Mäuse beschickten Platten steril, in anderen Fällen fanden sich Kolonien von Bakterien aus der Proteusgruppe, des Bacillus faecalis alcaligenes und, namentlich in Ausstrichen aus Darminhalt, Bakterien vom Charakter der Coli-Bazillen. Auf den mit Darminhalt beschickten Malachitgrünplatten waren in einem Teil der Fälle Kolonien aufgegangen, die den Nährboden gelb färbten

und durch ihr Wachstum an das der Enteritis-Bazillen erinnerten. Bei genauerem Zusehen zeigte sich, daß die Entwicklung dieser Kolonien sich nur an den Stellen vollzog, an denen gröbere Reste unzerriebener Kotpartikel liegen geblieben waren. Die nähere Prüfung der in den Kolonien enthaltenen Bakterien lieferte den unzweideutigen Beweis, daß es sich nicht um Enteritis-Bazillen handelte.

Der vorliegende bakteriologische Befund weicht wesentlich ab von demjenigen von Mühlens, Dahm und Fürst; sie fanden Enteritis-Bazillen bei über 50 % der gefütterten Mäuse, wir nur bei 1,4 %. Wir müssen aber Bedenken tragen, in den beiden positiven Fällen die Quelle der Infektion im Fleisch zu suchen, da es nicht gelungen ist, die Bakterien aus dem Fleische selbst zu züchten. Noch andere Gründe bestärken unsere Bedenken. In den beiden Fütterungsversuchen mit den Fleischproben 21 und 23a waren die Paratyphus B-Bazillen nur bei je einer Maus von zwei in der gleichen Weise gefütterten nachweisbar. Wären die Bazillen in dem verfütterten Fleisch enthalten gewesen, so wäre bei der verhältnismäßig großen Menge verfütterten Materials zu erwarten gewesen, daß sie auch bei den übrigen zwei, ebenfalls gestorbenen Mäusen nachzuweisen waren. Dazu kommt noch, daß die Fleischprobe 23a (roher Schinken) vor ihrer Verfütterung zwei Stunden lang im strömenden Dampf bei einer Temperatur von 98—100 ° C erhitzt worden ist. Ein solches Verfahren tötet die in einem nur wenige Millimeter dicken Fleischstücke, wie es jene Schinkenscheibe war, enthaltenen Bakterien sicher ab. Davon konnten wir uns durch einen Versuch, zu dem ein 5 cm langes, 2 cm dickes Enteritis-Bazillenhaltiges Pökelfleischstück Verwendung fand, überzeugen. Endlich ist noch zu berücksichtigen, daß die mit der ungekochten Pökelfleischprobe 23 gefütterten weißen Mäuse, die ebenfalls starben, keine Enteritis-Bazillen in sich beherbergten. Wären sie im Fleisch enthalten gewesen, so hätten ihnen doch die letztgenannten Versuchsmäuse in erster Linie zum Opfer fallen müssen.

Wir glauben deshalb zu dem Schluß berechtigt zu sein, daß uns weder durch das Kulturverfahren noch durch den Mäusefütterungsversuch der Nachweis von Enteritis-Bazillen in den von uns untersuchten 70 Fleischproben gelungen ist.

Dieses Versuchsergebnis steht in schroffem Gegensatz zu demjenigen von Mühlens, Dahm und Fürst; es beweist, daß das Vorkommen von Enteritis-Bazillen in ungekochten, gepökelten Fleischwaren keineswegs zu den gewöhnlichen Erscheinungen gehört, wie man nach den Untersuchungen der genannten Forscher hätte annehmen können.

Man könnte nun sagen, daß unsere negativen Versuchsergebnisse die positiven von Mühlens, Dahm und Fürst nicht zu widerlegen vermögen, da wir ja, wenn auch gleichartige, so doch ganz andere Fleischproben untersucht haben. Ein solcher Einwand würde jedoch übersehen, daß Mühlens, Dahm und Fürst selbst geneigt sind, ihren Untersuchungsergebnissen eine allgemeinere Bedeutung beizumessen und mit dem öfteren Vorkommen von Enteritis-Bazillen in ungekochtem Schweinefleisch und Gänsepökelfleisch zu rechnen. Wenn diese aus den Versuchsergebnissen von Mühlens, Dahm und Fürst abgeleiteten Schlußfolgerungen richtig wären, so

hätten wir doch, wenigstens in vereinzelten Fällen, solchen Bazillen in den von uns untersuchten Fleischwaren begegnen müssen, zumal da wir eine größere Zahl geprüft haben als Mühlens, Dahm und Fürst selbst.

Es sind noch andere Gründe, die uns an der Richtigkeit der Deutung, die Mühlens, Dahm und Fürst ihren Untersuchungsergebnissen geben, zweifeln lassen. Bei den Fleischproben mit positivem Enteritis-Bazillenbefund handelte es sich, abgesehen von dem Gänsefleisch, den Bücklingen und dem geräucherten Lachs, um tierärztlich untersuchte Nahrungsmittel. Denn es ist nicht anzunehmen, daß alle die Tiere, von denen das Fleisch stammte, der durch das Reichsgesetz, betr. die Schlachtvieh- und Fleischbeschau, angeordneten Beschau entzogen wurden. Wir wissen aber, daß Enteritis-Bazillen im unzerkleinerten Fleisch der Schlachttiere bei der üblichen Untersuchung nur dann angetroffen werden, wenn die Tiere, von denen es stammt, vor der Schlachtung offensichtlich krank gewesen sind, an einer septischen Erkrankung mit schwerer Störung des Allgemeinbefindens gelitten haben. Das Fleisch so erkrankter Tiere wird aber durch die Schlachtvieh- und Fleischbeschau vom Nahrungsmittelverkehr zurückgehalten und unschädlich beseitigt. Uhlenhuth und Hübener teilen neuerdings mit, daß die Muskeln junger Ferkel und zwar nicht nur der bei der Schlachtung offensichtlich kranken, sondern auch solcher, die keine anatomische Veränderungen aufweisen, aber anämisch und in der Entwicklung zurückgeblieben sind, häufig aus dem Darm eingewanderte Bakterien und unter ihnen auch Schweinepestbazillen enthalten. Aber auch das Fleisch solcher Kümmerlinge hält die Fleischbeschau vom allgemeinen Nahrungsmittelverkehr fern. Um das Fleisch von jungen, verkümmerten Ferkeln hat es sich bei den Untersuchungen von Mühlens, Dahm und Fürst offenbar auch gar nicht gehandelt, da aus solchen kein Pökelfleisch bereitet wird.

Außer in Schweinefleischproben fanden Mühlens, Dahm und Fürst hauptsächlich noch in Gänsepökelbrust und Gänsepökelkeule die Enteritis-Bazillen. Das Fleisch von Geflügel unterliegt der reichsgesetzlichen Bestimmung nicht; es wäre also nicht ausgeschlossen, daß Fleisch von kranken Gänsen hin und wieder in den Verkehr gelangt. Bis jetzt ist aber unseres Wissens nicht festgestellt, daß Enteritis-Bazillen als Krankheitserreger bei Gänsen eine Rolle spielen. Es schien deshalb von Wert, zu prüfen, wie sich Gänse gegenüber der Impfung mit Enteritis-Bazillen verhalten. Gelegentliche frühere Versuche hatten uns schon belehrt, daß Reinkulturen von solchen Bazillen, in den verhältnismäßig großen Mengen von 2—5 ccm subkutan verimpft, eine Erkrankung von Gänsen nicht zur Folge haben. Wir wählten deshalb gleich von vornherein größere Virusmengen.

Versuch 1. Eine gut genährte Gans erhält intravenös 9 Ösen, zu je 5 mg, einer 24stündigen virulenten Agarkultur des Bac. enteritidis Gärtner. Am darauffolgenden Tage ist die Gans noch ziemlich munter, nur fällt auf, daß sie sich häufiger als sonst niedersetzt.

Am dritten Tage nach der Impfung ist das Tier sichtlich krank. Sein Gefieder ist struppig, die Flügel sind gespreitzt und hängen schlaff zur Seite; es liegt oft, da es sich nur mit Mühe aufrecht erhalten kann. Das Tier setzt häufig graugelben,

sehr übelriechenden Kot ab, der die Umgebung der Kloake beschmiert. Im Kot und Blute der Gans können die verimpften Bakrerien leicht nachgewiesen werden.

Am folgenden Tage nehmen die Krankheitserscheinungen mehr und mehr zu, das Tier versagt die Futteraufnahme vollständig und liegt mit gespreizten Flügeln und mit rückwärts gebogenem Kopf am Boden, außerstande, sich zu erheben. Die Temperatur steigt bis auf 41,9 ° C an.

Am 13. Tag nach der Impfung stirbt das Tier.

Sektionsbefund. Kadaver abgemagert, die Umgebung des Afters und der Flügel sind von graugelbem, übelriechendem, dünnbreiigem Kot beschmutzt. Leber dunkelbraunrot, sehr hyperämisch, ebenso Milz und Nieren. Die Gefäße des Magens und des Darmkanals stark injiziert. Dünndarmschleimhaut geschwollen, stellenweise von zahlreichen Blutungen durchsetzt. Darminhalt flüssig, grau- bis grünlich-gelb.

Die ganze Schleimhaut des Blinddarms ist gelb, trübe, ohne erkennbare Struktur, nekrotisch und füllt als ein ca. 10 cm langes, 0,8 cm dickes, aus totem Gewebe bestehendes Rohr das Darmlumen aus.

Auch im Grimm- und Mastdarm ist die Schleimhaut an vielen Stellen nekrotisch, sie löst sich in graugelben Fetzen ab.

Gefäße des Herzmuskels stark injiziert, Muskel graurot. Blut gut geronnen.

Linke Lunge hyperämisch.

Im Herzblut, in Leber, Milz, Nieren und in der Muskulatur sind die injizierten Bakterien zahlreich zugegen.

Versuch 2. Eine zweite, ebenfalls etwa einjährige Gans erhält von derselben Agarkultur wie die vorige 5 Ösen intramuskulär in den linken Brustmuskel.

Während der ersten drei Tage nach der Impfung zeigt die Gans nur eine erhöhte Schmerzhaftigkeit an der Impfstelle, sonst keine Krankheitserscheinungen.

Vom vierten Tage ab macht sich ein sehr übelriechender graugelber Durchfall bemerkbar, das Tier ist aber ziemlich munter und frißt gut. Während der darauffolgenden Tage erholt es sich wieder.

Am 20. Tage nach der Impfung wird das anscheinend gesunde, aber noch mit einer Schwellung an der Impfstelle behaftete Tier aus einem besonderen Grunde getötet.

Die Muskulatur an der Impfstelle ist graugelb, nekrotisch, Leber und Milz sind hyperämisch. Darmschleimhaut stellenweise höher gerötet und geschwollen. Die verimpften Bakterien finden sich an der Impfstelle und im Darmtraktus in großer Zahl. Das Blutserum der Gans agglutiniert die verimpften Bakterien im Verhältnis von 1 : 1000.

Aus diesen Impfversuchen ergibt sich, daß Gänse zwar für eine Infektion mit Enteritis-Bazillen empfänglich sind und ihr sogar erliegen können, daß aber zu einer krankmachenden Wirkung eine verhältnismäßig sehr hohe Infektionsdosis selbst dann erforderlich ist, wenn die Bazillen in die Blutbahn eingeimpft werden. Die intramuskuläre Impfung mit der sehr großen Dosis von 5 Ösen einer Agarkultur löste nur vorübergehende, unerhebliche Krankheitserscheinungen aus.

Nach dem Ausfall dieser Versuche zu urteilen, dürften Enteritis-Infektionen bei Gänsen zu den großen Seltenheiten gehören und damit auch das Vorkommen dieser Bazillen im Fleisch von Gänsen. Es wäre noch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß Fleisch bei der gewerbsmäßigen Verarbeitung oder sonstwie durch Enteritis-Bazillen infiziert werden kann. Aber auch eine solche Erklärung, auf die von Mühlens, Dahm und Fürst gezogenen Schlußfolgerungen angewandt, vermag sie nicht zu stützen. Denn auch unter dieser Voraussetzung hätten diejenigen Fleischwaren, die nach ihrer Ansicht Träger der Bakterien waren, als solche durch die kulturelle Methode erkannt werden müssen, um so mehr, als für den Fall einer Kontaktinfektion die Bakterien der Fleischoberfläche anhaften und bei der Übertragung einer Fleischprobe in ein Nährmedium leicht in dieses übergehen und in ihm auskeimen können. Wir hielten von vornherein dafür, daß die Kulturmethode das schärfere Reagens zum Nachweis von Enteritis-Bazillen im Fleische sei. Durch Versuche, die wir nach dieser Richtung anstellten und über die wir hier anschließend berichten, wurden wir in dieser Ansicht bestärkt und von ihrer Richtigkeit überzeugt.

Ist die kulturelle Untersuchung oder der Fütterungsversuch mit Mäusen die geeignetere Methode zum Nachweis der in Fleischwaren enthaltenen Fleischvergiftungserreger? Um diese Frage im Experiment zu lösen, untersuchten wir Organe und das Fleisch von Tieren, die infolge einer natürlichen Infektion durch Enteritis-Bazillen erkrankt und z. T. notgeschlachtet wurden, z. T. verendet waren, auf die Anwesenheit dieser Bazillen. Von dem Untersuchungsmaterial wurde ein etwa haselnußgroßes Stückchen entnommen und direkt auf eine Löfflersche Malachitgrün- und eine Drigalskiplatte ausgestrichen. Das zum Ausstreichen benutzte Fleischstückchen wurde alsdann in ein Bouillonröhrchen verbracht, bei Brutschranktemperatur während 24 Stunden aufbewahrt und hierauf von dem Röhrcheninhalt je eine Öse auf die erwähnten Platten ausgestrichen. Außerdem wurde eine Maus mit einer Öse des Ursprungsmaterials subkutan geimpft, eine andere innerhalb der in der Tabelle II (Seite 264) näher angegebenen Zeit ausschließlich mit einer Fleischprobe gefüttert.

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß in allen Fällen, in denen viele Bakterien im untersuchten Material zugegen waren, ihr Nachweis sowohl auf dem Wege der Kultur als auf dem des Mäuseversuchs gelungen ist. Wenn dagegen die Bakterien nur spärlich im Fleische vertreten waren, hat zum Teil der Mäuseversuch versagt. Dies zeigt die Untersuchung der Probe Nr. 11, bei der sowohl die gefütterte als auch die geimpfte Maus am Leben geblieben sind, während auf den Platten einige wenige Kolonien aufgingen. Bei dem Versuch mit der Fleischprobe Nr. 9 war zwar die geimpfte Maus einer Enteritis-Infektion erlegen, aber die gefütterte am Leben geblieben. Dasselbe war in Versuch Nr. 10 der Fall mit dem Unterschied, daß die gefütterte Maus einige Tage sichtlich krank war, sich aber wieder erholte.

Jedenfalls, und das ist das wichtigste Ergebnis der Versuche, hat sich die Plattenmethode als das einfachere, zuverlässigere und rascher zum Ziel führende Verfahren erwiesen im Vergleich mit dem Mäuseversuch und dies ganz besonders dann, wenn, wie dies bei den Proben 9, 10 und 11 der Fall war, nur wenige Keime im

Tabelle II.

Material	Kulturelle Untersuchung				Mäusefütterung			Mäuseimpfung			
	Ausstrich auf										
	Löfflers Malachitgrünplatte		Conradi-Drigalski-Platte		Tag der Fütterung	Gehungert	Ergebnis	Tag der Impfung	Art der Impfung	Menge	Ergebnis
	direkt	aus Bouillon	direkt	aus Bouillon							
1. Fleisch	++	++	++	++	3. 2., 5. 2., 6. 2.	—	1. Ms. † n. 5 Tg. 2. Ms. † n. 5 Tg.	3. 2.	sc.	1 Öse	Ms. † n. 9 Tagen
2. Lunge	++	++	++	++	3. 2., 5. 2., 6. 2.	—	Ms. † n. 6 Tagen	3. 2.	„	„	Ms. † n. 10 Tagen
3. Milz	++	++	++	++	5. 2., 6. 2.	1 Tag	Ms. † n. 3 Tagen	5. 2.	„	„	Ms. † n. 4 Tagen
4. Lunge	++	++	++	++	5. 2., 6. 2.	1 „	desgl.	5. 2.	„	„	Ms. † n. 4 Tagen
5. „	—	++	+	++	5. 2., 6. 2.	$1^1/_2$ „	desgl.	5. 2.	„	„	Ms. † n. 8 Tagen
6. Leber	++	+	++	++	5. 2., 6. 2.	$1^1/_2$ „	Ms. † n. 5 Tagen	5. 2.	„	„	Ms. † n. 5 Tagen
7. Milz	++	++	++		5. 2., 6. 2.	$1^1/_2$ „	Ms. † n. 11 Tagen	5. 2.	„	„	Ms. † n. 4 Tagen
8. Niere	++	++	++	++	5. 2., 6. 2.	$1^1/_2$ „	Ms. † n. 13 Tagen	5. 2.	„	„	Ms. † n. 10 Tagen
9. Fleisch	2 Kol.	++	8 Kol.	++	10. 2., 11. 2.	1 „	bleibt am Leben	10. 2.	„	„	Ms. † n. 11 Tagen
10. „	1 „	31 Kol.	7 „	23 Kol.	10. 2., 11. 2.	1 „	einige Tage krank, erholt sich	10. 2.	„	„	Ms. † n. 15 Tagen
11. Lunge	—	15 „	2 „	25 „	10. 2., 11. 2.	1 „	bleibt gesund	10. 2.	„	„	bleibt gesund
12. Leber	++	++	++	++	10. 2., 11. 2.	1 „	Ms. † n. 6 Tagen	10. 2.	„	„	Ms. † n. 5 Tagen
13. Milz	++	++	++	++	10. 2., 11. 2.	1 „	Ms. † n. 5 Tagen	10. 2.	„	„	Ms. † n. 6 Tagen

++ = viele Bakterien.
\+ = wenige „
— = keine „

Ursprungsmaterial zugegen sind. In den Versuchen Nr. 9 und 10 trat der Tod der Versuchsmäuse erst nach 11 und 15 Tagen ein, während die Platten schon nach 24—48 Stunden über die Anwesenheit von Bakterien in den Fleischproben bestimmte Auskunft erteilt haben. Beim Vergleich der verschiedenen angewandten Methoden der Kultur treten jedoch nicht zu verkennende Unterschiede, oder wenigstens Abstufungen hervor. In den Fällen Nr. 5 und 11 waren die mit Organmaterial direkt bestrichenen Malachitgrünplatten völlig steril geblieben, auf den Drigalskiplatten nur wenige, auf den mit Material aus den Bouillonröhrchen beschickten Platten dagegen mehr, ja selbst viele Keime aufgegangen. Beim Vorhandensein nur weniger Keime

im Untersuchungsmaterial hat sich, wie die Tabelle zeigt, eine der Plattenaussaat vorangehende 24stündige Anreicherung der Bakterien in Bouillon bei Brutschranktemperatur zu ihrem sicheren Nachweis bewährt. Allerdings ist mit diesem Verfahren eine Verzögerung des Ergebnisses um 24 Stunden verbunden, ein Umstand, der zwar nicht im Laboratoriumsexperiment in Betracht kommt, aber für die Praxis der bakteriologischen Fleischbeschau von Belang sein würde. Die Anreicherungsfrist kann jedoch um 12—18 Stunden verkürzt werden, wenn man schon nach 6- oder 12stündigem Verweilen des Bouillonröhrchens im Brutschrank Probeausstriche auf Platten vornimmt. Liefern diese innerhalb 12—24 Stunden einen positiven Befund, so erübrigt sich von selbst ein späteres nochmaliges Ausstreichen des Bouillonröhrcheninhalts. War aber das Ergebnis negativ, so kann von einer Wiederholung der Plattenaussaat nach Ablauf von 24 Stunden nicht Abstand genommen werden.

Den Untersuchungen von frischem Fleisch schlossen wir solche mit gepökeltem an. Denn es war noch der Einwand zu berücksichtigen, daß bakteriologische Ergebnisse, die an jenem gewonnen wurden, nicht auch für dieses Geltung haben müssen.

Wir wählten in Anlehnung an die Verhältnisse, wie sie sich aus der Arbeit von Mühlens, Dahm und Fürst ergeben, in erster Linie Gänsefleisch als Pökelungsobjekt. Zur Gewinnung von bakterienhaltigem Material impften wir eine Gans mit 5 Ösen einer 24stündigen virulenten Agarkultur des Enteritis-Bazillus intravenös; eine Stunde nach der Impfung wurde das Tier getötet. Das Fleisch der Gans, das im Ausstrich viele Enteritis-Bazillen erkennen ließ, wurde 2 Stunden nach ihrem Tode zerlegt. Die Einzelstücke wurden mit reinem Kochsalz eingerieben, in ein Glas verbracht, mit Salz bestreut, übereinander geschichtet und im Eisschrank aufbewahrt. Täglich wurde das Fleisch mit der reichlich gebildeten Pökellake übergossen.

In bestimmten Zeitabständen entnahmen wir von dem Fleisch kleine, etwa haselnußgroße Probestückchen, strichen sie auf je eine Drigalski- und Malachitgrünplatte aus und verbrachten sie alsdann in ein Röhrchen mit Bouillon, das während 24 Stunden bei 37° C bebrütet wurde. Nach dieser Zeit wurden mit einer 62 mg fassenden Öse Ausstriche auf je eine Malachitgrün- und Drigalskiplatte vorgenommen. Mit einem zweiten Probestückchen wurden gleichzeitig je zwei weiße Mäuse gefüttert. In Tabelle III (Seite 266) ist das Ergebnis der Kultur- und Fütterungsversuche wiedergegeben.

Die Prüfung dieser Versuchsreihe zeigt, daß in allen Fällen der Nachweis der Enteritis-Bazillen durch die Kultur gelang, obwohl, wie bei den Versuchen 1, 6, 7, 8, nur wenige oder keine Kolonien auf den direkt mit Fleisch bestrichenen Platten aufgingen. In denjenigen Platten, die mit dem während 24 Stunden angereicherten Material beschickt wurden, war der Nachweis der verhältnismäßig zahlreich aufgegangenen Keime stets leicht.

Die Mäusefütterungsversuche waren durchweg positiv ausgefallen. Alle gefütterten Mäuse starben innerhalb 3—8 Tagen nach der Fütterung und bei sämtlichen gelang auch der Nachweis der Enteritis-Bazillen, aber selbst bei frühzeitigem Eintritt des Todes der Mäuse stets um mehrere Tage später als bei der Methode der direkten Kulturzüchtung.

Tabelle III.

Laufende Nr.	Zeit der Pökelung	Kochsalzgehalt der untersuchten Fleischstücke %	Kulturelle Untersuchung				Mäuseversuch	Bemerkung
			a) Direkter Ausstrich		b) nach 24 stündigem Verweilen in Bouillon			
			Mal.-Platte	Drig.-Platte	Mal.-Platte	Drig.-Platte		
1	1 Tag	—	3 Kol.	12 Kol.	+	++		
2	5 Tage	11,3	+	+	+	++	2 an 3 aufeinanderfolgenden Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 3 und 4 Tagen	Bakteriologischer Befund bei den Mäusen positiv
3	10 „	11,08	+	++	+	++	2 während 3 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 4 Tagen	Wie bei 2
4	13 „	10,9	+	++	+	++	2 an 3 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 4 bezw. 6 Tagen	Desgl.
5	18 „	11,8	+	+	+	++	2 an 4 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 4 bezw. 8 Tagen	Desgl.
6	29 „	11,5	1 Kol.	5 Kol.	+	+	2 an 4 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 7 bezw. 8 Tagen	Desgl.
7	29 „	Salzlake 10,9	—	5 „	+	+		
8	39 „	12,79	1 Kol.	+	+	++	2 an 4 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 5 Tagen	Desgl.
9	49 „	12,06	+	+	+	+	2 an 4 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 4 und 5 Tagen	Desgl.
10	58 „	13,01	5 Kol.	+	+	+	2 an 2 Tagen gefütterte weiße Mäuse starben nach 3 Tagen	Desgl.
11	80 „	13,08	8 „	15 Kol.	+	+		

Zu einem weiteren Versuch wurde ein 450 g schweres und 2—2½ cm dickes Stück Kalbfleisch benutzt. Das Fleisch stammte von einem Kalb, das einer künstlichen Fütterungsinfektion mit Enteritis-Bazillen erlegen war. In dem frischen Fleisch konnten Enteritis-Bazillen durch das Kulturverfahren leicht nachgewiesen

werden, wenn auch nur in verhältnismäßig geringer Menge. Auf der Malachitgrün- und Drigalskiplatte, auf die ein etwa bohnengroßes Stück Fleisch ausgestrichen worden war, gingen nur wenige Kolonien auf, auf der einen 10, auf der anderen 23. Bei einer zweiten, in derselben Weise ausgeführten Untersuchung blieb auf der Malachitgrünplatte jegliches Wachstum aus, auf der Drigalskiplatte entwickelten sich etwa 25 Kolonien.

Da Mühlens, Dahm und Fürst annehmen, daß in den von ihnen mit positivem Ergebnis untersuchten Fleischproben Bakterien anscheinend nur in geringer Menge enthalten gewesen seien, so eignete sich dieses Stück Fleisch mit seinen wenigen Keimen sehr gut zu den Untersuchungen, für die es bestimmt war. Die Pökelung des Fleisches und seine weitere bakteriologische Verarbeitung geschah wie bei der vorangehenden Versuchsanstellung.

Die Versuche (Tabelle IV, S. 268) bestätigen das Ergebnis der beiden ersten; sie zeigen, daß die selbst in geringer Zahl in gepökeltem Fleische enthaltenen Bazillen durch das Kulturverfahren leicht und sicher nachweisbar sind. Dagegen kann, wie sich aus den Versuchen 1 und 7, und zum Teil auch aus 14 der nachstehenden Tabelle ergibt, der Mäusefütterungsversuch versagen. Zwar ist anzunehmen, daß bei Fortsetzung der Fleischfütterung auch die bei den verschiedenen Versuchen am Leben gebliebenen Mäuse früher oder später verendet wären. Dies geht aus dem Versuch mit der Probe 2 hervor, in dem die Mäuse nach nochmaliger Wiederholung der Fleischfütterung einer Enteritisinfektion erlegen sind. Aber ein solches Vorgehen ist für die Praxis der bakteriologischen Fleichuntersuchung nicht brauchbar, weil es das Ergebnis wesentlich und auf unbestimmte Zeit hinausschiebt. Die schon bei der Untersuchung frischen Fleisches gemachte Beobachtung, daß bei direktem Fleischausstrich auf Platten jegliches Wachstum ausbleiben kann, selbst wenn die Bakterien im Fleisch zugegen sind, tritt in der Tabelle scharf hervor. Nicht nur die Malachitgrün-, sondern auch die Drigalskiplatte blieb häufig steril. An dieser Erscheinung hat, wie wir uns durch nähere Versuche überzeugten, der entwicklungshemmende Einfluß des Kochsalzes einen wesentlichen Anteil. Dieser Einfluß fällt weg oder wird unerheblich, wenn die Fleischprobe zunächst in Bouillon übertragen wird. Hier vermehren sich die Keime rasch und von hier aus können sie durch das Plattenverfahren unschwer nachgewiesen werden.

Für die bakteriologische Untersuchung von Pökelfleisch auf die Anwesenheit von Enteritis-Bazillen ist hiernach eine vorhergehende Anreicherung in Bouillon unerläßlich. Wir dehnten diese Anreicherung in der Regel auf 24 Stunden aus, glauben aber, daß sie auch auf 12 oder weniger Stunden beschränkt werden kann. Andererseits konnten wir feststellen, daß die auf 24 Stunden bemessene Zeit nicht für alle Fälle ausreicht, nämlich dann nicht, wenn nach langer Pökelungszeit die Bakterien an Zahl vermindert und die noch vorhandenen in ihren Lebenseigenschaften beeinträchtigt sind. Dies ergibt sich aus den Versuchen 11—15 der Tabelle. Bei dem Versuch Nr. 12 waren auf den Platten nach 24stündigem Zuwarten keine Kolonien mehr aufgegangen. Wir nahmen deshalb an, daß sie jetzt unter der langen Einwirkung des Kochsalzes vollständig abgetötet wären. Zu aller Sicherheit führten wir aber nach

Tabelle IV.

Laufende Nr.	Zeit der Pökelung	Kochsalzgehalt der untersuchten Fleischstücke %	Kulturelle Untersuchung: a) Direkter Ausstrich		Kulturelle Untersuchung: b) Nach 24stündigem Verweilen in Bouillon		Mäuseversuch	Bemerkungen
			Mal.-Platte	Drig.-Platte	Mal.-Platte	Drig.-Platte		
1	5 Tage	16,03	—	+	++	+++	Die beiden an 2 aufeinander folgenden Tagen mit der Fleischprobe gefütterten Mäuse blieben am Leben	
2	9 „	14,75	—	—	++	++	Die zwei weißen Mäuse starben erst nach zweimaliger Wiederholung der Fütterung und nach Verfluß von 12Tagen	Aus den Organen der Mäuse konnten die Enteritis-Bazillen in Reinkultur gewonnen werden
3	12 „	17,56	—	—	++	++		
4	20 „		—	—				
5	27 „	19,3	—		++	++		
6	33 „		—	—	++	++		
7	40 „ (Aus der Mitte des Fleischstücks entnommen	17,63		+	++	++	Zwei subkutan mit zwei linsengroßen Fleischstückchen geimpfte weiße Mäuse blieben am Leben, ebenso auch zwei Mäuse, die an 2 aufeinander folgenden Tagen mit Fleisch gefüttert wurden	Zwei mit je 1 Öse aus der Drig.-Platten-Kultur subkutan geimpfte weiße Mäuse starben nach 2—4 Tagen. Die Bakterien haben also ihre Virulenz bewahrt
8	40 Tage (Oberflächliche Schicht des Fleischstücks)	19,85	—	—	+	+	Zwei mit Fleisch gefütterte weiße Mäuse starben nach 2—3 Tagen	In den Organen der gestorbenen Mäuse sind die Enteritisbazillen nachweisbar
9	Salzlake	30	—	—	+	+		
10	56 Tage			—	—	4 Kolonien	Eine an 4 aufeinander folgenden Tagen mit dem Fleisch gefütterte weiße Maus starb am 6. Tage nach Beginn der Fütterung	Nur im Ausstrich aus Darminhalt sind Kolonien (etwa 20) aufgegangen
11	60 „	12,74	—	—	—	—		Das Pökelfleisch war im Lauf der Zeit eingetrocknet, es wurde deshalb Wasser zugesetzt

Zeichenerklärung: — = kein Wachstum.
\+ = wenige Kolonien,
++ = viele „
+++ = sehr viele „

Laufende Nr.	Zeit der Pökelung	Kochsalzgehalt der untersuchten Fleischstücke %	Kulturelle Untersuchung				Mäuseversuch	Bemerkungen
			a) Direkter Ausstrich		b) Nach 24 stündigem Verweilen in Bouillon			
			Mal.-Platte	Drig.-Platte	Mal.-Platte	Drig.-Platte		
12	64 Tage		—	—	— Nach 48 Std. + Nach 72 Std. ++	— Nach 48 Std. + Nach 72 Std. ++		
13	68 „	12,9	—	—	— Nach 48 Std. 8 Kolonien Nach 72 Std. +	— Nach 48 Std. + Nach 72 Std. ++		
14	75 „	12,79	—	—	— Nach 48 Std. — Nach 72 Std. —	— Nach 48 Std. + Nach 72 Std. +	Von zwei an 3 aufeinander folgenden Tagen gefütterten Mäusen starb die eine 7 Tage nach Beendigung der Fütterung. Die andere Maus blieb am Leben	Der bakteriologische Befund bei der gestorbenen Maus war positiv und typisch
15	80 „	12,9	—	—	— Nach 48 Std. — Nach 72 Std. —	— Nach 48 Std. — Nach 72 Std. —	Die eine der während 5 Tagen gefütterten beiden Mäuse starb am Tage nach der letzten Fütterung. Die andere Maus blieb am Leben	Der bakteriologische Befund bei der gestorbenen Maus war negativ

48 und 72 Stunden nochmals Übertragungen aus der Bouillon aus mit dem Ergebnis, daß nunmehr noch Kolonien auf den besäten Platten zum Vorschein kamen. Im Versuch Nr. 15 blieb selbst nach 72stündiger Anreicherung das Wachstum von Keimen auf den Platten aus. Durch eine Wiederholung der Übertragung aus Bouillon nach 10 Tagen versicherten wir uns, daß die Bakterien in der Tat zugrunde gegangen waren. Während im Versuch Nr. 14 das Kulturverfahren schon nach 72 Stunden ein endgültiges Ergebnis lieferte, war dies beim Mäuseversuch erst nach 10 Tagen der Fall. Es verdient daher das Kulturverfahren selbst oder gerade dann den Vorzug, wenn im Fleisch nur eine geringe Zahl von Keimen zugegen ist und die vorhandenen in ihren Lebenseigenschaften gehemmt sind.

Die Frage, die uns zur Anstellung der letzterwähnten Versuche bestimmte, können wir also dahin beantworten, daß das Kulturverfahren unter Berücksichtigung der Anreicherungsmethode das beste Hilfsmittel zum Nachweis von Enteritis-Bazillen im Fleische darstellt und dem Mäusefütterungsversuch entschieden überlegen ist.

Im Einzelfall wird man gut tun, gleichviel, ob es sich um den Nachweis von Enteritis-Bakterien im frischen oder gepökelten Fleisch handelt, die unter sterilen Kautelen dem zu untersuchenden Fleisch entnommene, etwa haselnußgroße Probe zunächst direkt auf eine Drigalski- und eine Malachitgrünplatte auszustreichen und alsdann in ein Röhrchen mit steriler Bouillon zu verbringen. Gehen innerhalb 12—24 Stunden auf den mit der Fleischprobe direkt bestrichenen Platten typische oder verdächtige Kolonien auf, so erübrigt sich die Vornahme eines weiteren Plattenausstrichs aus dem Inhalt des Bouillonröhrchens auf den gedachten Nährböden; andernfalls würde sie sich empfehlen, und zwar nach Ablauf von 12—24 Stunden. Es kann bei diesem Verfahren nach 24 Stunden oder gar schon früher, nach 12, 18, spätestens nach 48, die endgültige Auskunft erwartet werden.

Wie Mühlens, Dahm und Fürst angeben, beschickten sie häufig zunächst Bouillonröhrchen mit etwa 1 ccm des zerriebenen Fleisches und besäten nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank aus diesen Röhrchen die Platten. Wenn sie bei diesem Vorgehen niemals Enteritis-Bazillen im Fleische nachweisen konnten, so ist daraus, wie aus unsern Versuchen wohl genügend hervorgeht, mit Bestimmtheit zu schließen, daß die Bakterien in den Fleischproben überhaupt nicht enthalten waren.

Wie sind nun die von Mühlens, Dahm und Fürst bei ihren Mäusefütterungen gewonnenen Ergebnisse zu erklären? In dem Umstand, daß bei den von ihnen angestellten Fütterungsversuchen viele Mäuse starben und in den Organen der gestorbenen Mäuse Enteritis-Bazillen gefunden wurden, darf jedenfalls nicht ohne weiteres der Beweis gesehen werden dafür, daß diese Bazillen die Todesursache waren. Wie unsere Versuche gezeigt haben, genügt die Fütterung von Pökelfleisch allein schon, ohne daß es Träger von pathogenen Keimen ist, um den Tod von Mäusen nach sich zu ziehen. Man könnte daran denken, daß das im Pökelfleisch enthaltene Kochsalz die Ursache des Todes der weißen Mäuse gewesen sei. Ein nach dieser Hinsicht angestellter Versuch schien diese Ansicht zu bestärken. Zwei weiße Mäuse, in ein steriles leeres Glas gesetzt, erhielten Brotkrümelchen, die mit 1 ccm einer 25%igen Kochsalzlösung getränkt worden waren. Die eine Maus starb schon am nächsten, die andere am übernächsten Tage. Bakterien, die als Infektionskeime hätten in Betracht kommen können, waren in ihren Organen nicht aufzufinden. Der Schluß lag nahe, daß das Kochsalz den Tod der Mäuse verursacht hatte. Wir wurden aber eines anderen belehrt, als wir zwei weiße Mäuse unter denselben Verhältnissen nur mit Brotkrumen fütterten, die mit Leitungswasser benetzt waren und täglich erneuert wurden. Auch diese Mäuse starben nach Ablauf von 7 Tagen. Aus diesen Versuchen ist zu schließen, daß das Kochsalz zwar schädigend auf den Organismus der Mäuse einwirkte und ihren Tod rascher herbeiführte, jedenfalls aber nicht als die alleinige Todesursache anzusehen war.

Wir stellten ferner einige Fütterungsversuche mit frischem, nicht gesalzenem oder geräuchertem Schweine-, Rind- und Pferdefleisch an. Je vier Mäuse wurden täglich mit frischem, von gesunden Tieren stammendem Schweine-, Rind- und Pferdefleisch gefüttert. Von der ersten Serie von Versuchsmäusen, die Schweinefleisch erhalten hatte, starb eine Maus 4 Tage nach Beginn der Fütterung, von der zweiten

Serie eine Maus nach 10 Tagen, von der dritten starben sämtliche Mäuse nach 5, 6, 9 und 10 Tagen. Dieser Versuch zeigt, daß auch die Verfütterung von frischem, einwandfreiem Fleisch den Tod von weißen Mäusen herbeiführen kann. Rüther hat auf diese Tatsache schon hingewiesen. Der pathologisch-anatomische und der bakteriologische Befund bei unsern gestorbenen Mäusen war negativ.

Wir gingen auch der Frage nach, ob etwa der Mangel an Wasser bei gleichzeitiger und ausschließlicher Fütterung von Pökelfleisch die Ursache des Todes unserer Versuchsmäuse sein konnte. Um hierüber Klarheit zu bekommen, fütterten wir 2 weiße Mäuse ausschließlich mit Pökelfleisch (rohem Schinken) und stellten ihnen frisches Wasser zur Verfügung, das täglich erneuert wurde. Die eine der beiden Mäuse starb am 8. Tage nach Beginn des Versuchs, während die zweite bis zur Beendigung der 12tägigen Fütterung, als der Vorrat an Fleisch erschöpft war, gesund geblieben war. Es scheint also in der Tat, als ob der Mangel an Wasser bei ausschließlicher Pökelfleischfütterung die schädliche Wirkung der letzteren zu erhöhen imstande sei.

Wie schon erwähnt, hatten wir beobachtet, daß Mäuse, wenn sie einige Male von dem ihnen vorgesetzten Pökelfleisch gefressen hatten, es in der Folgezeit verschmähten, aber gierig andere ihnen dargereichte Nahrung, wie Brot und Hafer, aufnahmen. Die Tiere litten also offenbar Hunger infolge Mangels an geeigneter Nahrung. Daß dieser Umstand mit zum Tode einer größeren Zahl von Mäusen beigetragen hat, scheint uns auf Grund von Beobachtungen an hungernden Mäusen nicht zweifelhaft. Zwei weiße Mäuse, denen wir die Nahrung ganz entzogen hatten, starben schon nach 2 Tagen. Auch starben bei unseren Fleischfütterungsversuchen, zu denen die Mäuse durch mehrtägiges Hungern vorbereitet wurden, verhältnismäßig viele, insgesamt 10, innerhalb der zweitägigen Hungerfrist. Ferner konnten wir wiederholt feststellen, daß Mäuse, die infolge der Fleischfütterung sichtlich krank waren, sich rasch und vollständig wieder erholten, wenn ihnen geeignete Nahrung gereicht wurde.

Die Tatsache, daß Pökelfleisch für sich allein und selbst frisches Fleisch bei der Verfütterung an weiße Mäuse den Tod dieser Versuchstiere herbeiführen kann, verdient die gebührende Beachtung bei Fleischfütterungsversuchen, wenn anders sich nicht Trugschlüsse einschleichen sollen. Wie nahe liegt es, den Tod von Mäusen im Anschluß an eine Fleischfütterung auf eine durch das Fleisch bedingte Infektion oder Intoxikation zurückzuführen. Eine solche Schlußfolgerung muß aber mit Vorsicht aufgenommen werden, wenn sie nicht durch hinreichende Kontrollen sichergestellt ist. Jedenfalls darf nach dem Ergebnis unserer Untersuchungen eine durch Fleischfütterung bedingte Infektion nur dann angenommen werden, wenn die Bakterien, die aus dem Herzblut und den Organen der im Anschluß an die Fütterung gestorbenen Mäuse gewonnen wurden, bei sorgfältiger Prüfung mit den aus dem Fleisch gezüchteten übereinstimmen.

Hiernach können wir auch nicht mit Mühlens, Dahm und Fürst in den von ihnen an Mäuse verfütterten Fleischwaren die Infektionsquelle für diejenigen Mäuse sehen, die im Anschluß an die Fleischfütteruug starben und in ihren Organen Enteritis-Bazillen aufwiesen. Ja wir möchten noch weiter gehen und den Tod dieser Mäuse

nicht als die unmittelbare und ausschließliche Wirkung der in ihrem Körper nachgewiesenen Enteritis-Bazillen anerkennen.

Zunächst ist noch zu prüfen, woher, wenn nicht aus dem Fleisch, die bei einer größeren Zahl fleischgefütterter Mäuse von Mühlens, Dahm und Fürst gefundenen Enteritis-Bazillen stammten. Die Forscher haben durch zweckentsprechende Maßnahmen und Kontrollen Vorkehrungen getroffen, jede andere Infektionsmöglichkeit von außen für ihre Versuchsmäuse fernzuhalten. Sie rechneten mit der Möglichkeit, daß die zur Aufnahme der Mäuse bestimmten Gläser die Enteritis-Bazillen beherbergen konnten. Daher wurden die Gläser vor ihrer Benutzung einer peinlichen Reinigung und Desinfektion unterzogen und vor äußeren Infektionen, wie durch Vermittlung von Fliegen, geschützt. Um die Möglichkeit einer durch das Hantieren mit dem Fütterungsmaterial nachträglich sich etwa einschleichenden Kontaktinfektion fernzuhalten, wurde ferner die Fütterung der Mäuse durch den Versuchsleiter selbst und nicht durch den Diener besorgt. Endlich war noch darauf Rücksicht genommen, ob nicht die Erkrankung der Mäuse durch eine spontane Epidemie, eine Laboratoriumsinfektion oder durch die außer dem Fleische den Mäusen gereichte, aus Brot und Hafer bestehende Nahrung bedingt sein konnte. Zur Prüfung dieser Frage wurden 40 Kontrollmäuse ausschließlich mit Brot und Hafer gefüttert, von diesen Kontrollmäusen gingen innerhalb 3 Wochen 6 = 15% spontan ein. Nur bei einer waren Bakterien vom Enteritistypus II zu finden. Mühlens, Dahm und Fürst erwähnen noch, daß Kutscher im Institut für Infektionskrankheiten, in dem sie ihre Versuche anstellten, aus der Milz von 2 Mäusen, die mit Pferdemist gefüttert worden waren, Bazillen vom Typus Enteritis I gezüchtet, und daß Rothe bei einer weißen Maus, die mit Pneumokokken infiziert worden war, in der Milz eine Reinkultur des Bazillus vom Typus Enteritis II gefunden habe. Obwohl hiernach, wie Mühlens, Dahm und Fürst ausdrücklich betonen, spontane Infektionen von Mäusen mit Enteritis-Bazillen vorkommen, ist nach ihrer Ansicht doch, und zwar in Anbetracht des hohen Prozentsatzes von positiven Bakterienbefunden bei mit Fleisch gefütterten Mäusen, ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den Enteritis-Bakterienfunden in den gestorbenen Mäusen und der Fleischfütterung sehr wahrscheinlich. Diese Ansicht können wir, wie wir begründet haben, nicht teilen. Für uns ist bei Prüfung aller Umstände die einzig befriedigende Erklärung die, daß die Bazillen nicht im Fleisch, sondern vor der Fütterung schon im Mäusekörper enthalten waren, eine Möglichkeit, die bereits Mühlens, Dahm und Fürst selbst in den Kreis ihrer Erwägungen gezogen haben. Eine solche Erklärung würde zur Voraussetzung haben, daß Mäuse Enteritis-Bazillen aufnehmen und längere Zeit, ohne zu erkranken, in sich tragen können. Diese Möglichkeit ergibt sich aus Fütterungsversuchen, die von verschiedenen Seiten mit derartigen Bakterien angestellt wurden. Allerdings war das Ergebnis dieser Versuche nicht einheitlich.

Aus den Versuchen Löfflers geht hervor, daß nach Aufnahme von abgeschwächten, lebenden Mäusetyphusbazillen per os einzelne weiße Mäuse am Leben blieben.

Bonhoff erzielte ein positives Ergebnis, d. h. den Tod der mit Paratyphus-B-Bazillen gefütterten weißen Mäuse. Korte war dies nicht gelungen; seine mit Paratyphus-B-Bazillen infizierten weißen Mäuse und Meerschweinchen blieben am Leben,

Smidt konnte mehrfach weiße Mäuse durch Verfütterung von Paratyphus-B-Bazillen töten. Uhlenhuths Fütterungsversuche mit dem Greifswalder Bazillus, dem Mäusetyphus-, Gärtner-, Rumfleth- und Paratyphus-B-Bazillus ergaben, daß nur die mit den beiden erstgenannten Bakterien gefütterten Mäuse der Infektion erlagen.

Kutscher und Meinicke haben Bouillonkulturen des Paratyphus-B-Bazillus an Mäuse verfüttert mit dem Erfolg, daß die mit einigen hochvirulenten Stämmen gefütterten weißen Mäuse nach 8—14 Tagen starben. Die mit andern, ebenfalls hochvirulenten Stämmen gefütterten weißen Mäuse starben dagegen nicht, obwohl ihnen verhältnismäßig große Mengen, z. B. drei Bouillonkölbchen an 10 weiße Mäuse in Semmelaufweichung, verabreicht worden waren. Die Mäuse schieden in den Fäces Paratyphus-Bazillen aus, erkrankten aber während einer vierwöchigen Beobachtungsdauer nicht.

Der von Marks zu seinen Fütterungsversuchen benützte Schweinepeststamm tötete bei seiner Verfütterung die Mäuse innerhalb 7—10 Tagen. Die 5 Paratyphus-Stämme, mit denen Yoshida seine Immunisierungsversuche anstellte, töteten weiße Mäuse weder bei subkutaner Impfung noch bei der Fütterung.

Zu unsern eigenen Fütterungsversuchen benützten wir Bouillonkulturen von Enteritis-Bazillen und verwandten Bakterien. Sämtliche Kulturen waren vor der Verabreichung während 6 Wochen am Fenster dem Tageslicht ausgesetzt gewesen. Indes ergab die vor der Verfütterung der verschiedenen Kulturstämme vorgenommene Prüfung ihrer Virulenz, daß diese kaum abgenommen hatte. Denn die subkutan mit 1 Öse geimpften weißen Mäuse sind ohne Ausnahme nach 4—5 Tagen gestorben.

Die Versuche nahmen folgenden Verlauf:

1. 2 weiße Mäuse erhielten eine Bouillonkultur des Enteritis-Stammes Aertryck in der Menge von 10 ccm während 6 Tagen mit Brot. Die eine der so gefütterten Mäuse starb schon nach 8 Tagen, die andere blieb am Leben und schied, wie die zeitweilige Untersuchung ergab, 83 Tage lang die Bazillen im Kot aus.

2. Von 6 weißen Mäusen wurden je 2 mit 5 ccm einer Bouillonkultur des Enteritis-Stammes Sirault gefüttert. Zwei von diesen Mäusen starben nach 7 und 12 Tagen, die übrigen blieben am Leben. Bei 2 Mäusen wurden noch am 84. Tage die verfütterten Bakterien im Kot gefunden, bei den zwei anderen waren sie zu dieser Zeit nicht mehr nachweisbar.

3. Von 4 weißen Mäusen erhielten je 2 zusammen eine halbe Bouillonkultur eines Paratyphus-B-Stammes. Sämtliche Mäuse blieben am Leben. Bei der einen war der Kot während 46 Tagen, bei der anderen während 70 Tagen auf die Anwesenheit der verfütterten Bakterien geprüft worden, und zwar mit positivem Ergebnis.

4. 4 weiße Mäuse wurden in derselben Weise wie im Versuch 3 mit einer Bouillonkultur eines Paratyphus-B-Stammes anderer Herkunft als Nr. 3 gefüttert; 2 von ihnen starben nach 4 und 9 Tagen, die andern 2 überlebten und schieden während 46 Tagen die Bakterien aus.

Das Ergebnis dieser Fütterungsversuche mit Reinkulturen geht also dahin, daß von 16 weißen Mäusen, die eine verhältnismäßig reichliche Menge von Enteritis-Bazillen in sich aufgenommen haben, 11 = 68,75% am Leben blieben und längere Zeit, zum Teil monatelang, die Bakterien mit dem Kot ausschieden.

Mit den angegebenen Untersuchungstagen sind die Grenzen für die Bakterienausscheidung nicht festgelegt. Die Untersuchungen wurden vielmehr nach Ablauf der bezeichneten Fristen aus äußeren Gründen abgebrochen.

Die Untersuchung des Kotes nach der Kulturfütterung geschah in Zeitabständen von 4—10 Tagen. Dabei ergab sich, daß eine und dieselbe Maus bei der einen Untersuchung einen negativen, bei einer späteren einen positiven bakteriellen Befund lieferte. Wir fanden also bei unsern künstlich zu Dauerausscheidern gemachten Mäusen die Bakterien nicht bei jeder Kotuntersuchung. Ja es kam vor, daß trotz mehrmaliger Kotuntersuchung die Bakterien nicht gefunden wurden, obwohl sie, wie sich nach dem darauffolgenden Tode der Mäuse ergab, im Mäusekörper enthalten waren. Wir erklären uns derartiger Vorkommnisse damit, daß die Bakterien nicht gleichmäßig im Darminhalt verteilt sind und daß sie ferner in inneren Organen, so in der Leber und Gallenblase lokalisiert sein und nur zeitweise ausgeschieden werden können. Dies geht daraus hervor, daß wir öfters bei künstlich infizierten, aber nicht gestorbenen, später getöteten weißen Mäusen nekrotische Herde mit Bakterien in der Leber fanden und die letzteren öfters auch in der Gallenblase. Das negative Ergebnis einer und selbst einiger wiederholter Kotuntersuchungen beweist also noch nicht, daß zu Versuchen bestimmte Mäuse Enteritis-Bazillen nicht beherbergen.

Nachdem durch die zuletzt angeführten Versuche erwiesen war, daß Mäuse künstlich mit der Nahrung ihnen zugeführte Bakterien nach vorübergehender Erkrankung oder ohne eine solche in der Folgezeit mit dem Kot ausscheiden, war das Ziel unserer weiteren Untersuchungen, festzustellen, wie sich das Schicksal solcher Dauerausscheider bei einer Pökelfleischfütterung gestaltet: ob sie ausnahmelos nach Aufnahme solcher Fleischnahrung zugrunde gehen, und ob die Bakterien unter dem Einfluß der durch die Fleischfütterung hervorgerufenen Körperschädigung ihre saprophytische Existenz aufgeben, aggressiv werden und in die Säfte und Organe des Körpers eindringen.

Wir fütterten zum Zweck dieser Feststellung solches Dauerausscheider mit bakteriologisch einwandfreiem Pökelfleisch; insgesamt fanden 11 Verwendung. Es sind dieselben Mäuse, die bei den auf S. 273 beschriebenen Kulturfütterungsversuchen am Leben geblieben waren. Ferner wurden unter der Reihe der Kontrollmäuse 2 in den Versuch eingestellt, die bei der der Fütterung vorangegangenen Kotuntersuchung sich als Träger von Bazillen vom Charakter der Paratyphus-B-Bazillen erwiesen hatten; im Kot der übrigen 10 Kontrollmäuse waren bei zweimaliger, an 2 Tagen vorgenommener Untersuchung verdächtige Bakterien nicht zu entdecken gewesen. Zur Erläuterung der in den folgenden beiden Tabellen gewählten Bezeichnungen sei erwähnt, daß wir den Befund als „positiv“ bezeichneten, wenn im Herzblut, in der Leber, Milz, den Nieren und im Darminhalt Bakterien gefunden wurden, die nach ihren biologischen und agglutinatorischen Eigenschaften mit den verfütterten übereinstimmten; als „typisch“, wenn außerdem bei der Sektion der Mäuse eine Schwellung der Milz und Leber, u. U. auch nekrotische Herde in der letzteren, Entzündung des Darmes, Trübung der Nieren und des Herzmuskels konstatiert wurde.

Tabelle V.

Laufende Nr.	Impf-Tiere	Verfütterte Kultur	Menge und Alter der Kultur	Dauer und Zeit der Kulturfütterung	Wie lange gehungert vor der Fütterung	Bakterieller Kotbefund während der Hungerperiode		Gefütterte Fleischprobe	Dauer der Fleischfütterung	Ergebnis der Fleischfütterung		Untersuchungsbefund bei den gestorbenen weißen Mäusen
					Tage	1. Tag	2. Tag	Nr.	Tage	Maus bleibt am Leben	Tod nach ? Tagen nach Beginn der Fleischfütterung	
1	1 weiße Maus	Aertryk Bac. enterit.	2,5ccm B.-K., 14 Tg. a. F.	5 Tg., vor 56 Tg.	2	+	+	51	4	+		
2	2 weiße Mäuse	Bac. paratyph. B. Clauß	8 ccm 10 Tg. a. F.	2 Tg., vor 45 Tg.	2	+ —	+ +	52	4	 +	4	positiv u. typisch
3	desgl.	Bac. enterit. Sirault	1 ccm 8 Tg. a. F.	1 Tg., vor 50 Tg.	2	— —	— +	53	4	+ +		
4	desgl.	Bac. paratyph. B. L.	4 ccm 4 Tg. a. F.	2 Tg., vor 45 Tg.	2	+ +	+ +	54	4	+	 5	desgl.
5	desgl.	Bac. enterit. Sirault	1 ccm 8 Tg. a. F.	1 Tg., vor 50 Tg.	2	+ —	+ + —	55	4	 +	9	desgl.
6	desgl.	Bac. paratyph. B. Ma.	8 ccm 10 Tg. a. F.	2 Tg., vor 45 Tg.	2	+ —	+ —	56	4		4 4	desgl. desgl.
7	desgl.	Vollkommen gesund erscheinende weiße Mäuse, die einige Zeit beobachtet u. zuvor nicht im Versuch waren	Kontrolle zu Nr. 1		2	— —	— —	51	4	+ +		
8	desgl.		Kontrolle zu Nr. 2		2	— +	— +	52	4	+	6	desgl.
9	desgl.		Kontrolle zu Nr. 3		2	— —	— —	53	4	+	3	desgl.
10	desgl.		Kontrolle zu Nr. 4		2	— —	— —	54	4	+ +		
11	desgl.		Kontrolle zu Nr. 5		2	— —	— —	55	4	+ +		
12	desgl.		Kontrolle zu Nr. 6		2	— —	— —	56	4	+ +		

Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich, war die Mortalitätsziffer bei den 11 Dauerausscheidern eine wesentlich höhere als bei den Kontrolltieren. Von jenen starben 5 = 45,45 %, von diesen 2 = 16,66 %. Bei den 5 gestorbenen Mäusen der ersten Gruppe fanden sich die verfütterten Bakterien wieder vor.

Die eine der gestorbenen Kontrollmäuse war schon vor der Fütterung als Bakterienträger bekannt, bei der andern ist dieser Nachweis erst durch die nachträgliche Untersuchung nach dem Tod geführt worden; bei dieser fanden sich Paratyphus-B-Bazillen im Herzblut, in der Milz, Leber, den Nieren und im Darm.

In einer zweiten Versuchsreihe (Tabelle VI) ist die Anordnung der ersten wiederholt worden, nur mit dem Unterschied, daß wir sowohl die Hungerperiode vor der

Fleischfütterung als auch die Dauer der letzteren verlängerten. Das Ergebnis des zweiten Versuchs bestätigt dasjenige des ersten. Die Zahl der beim zweiten Versuch gestorbenen Dauerausscheider war noch größer; unter 9 gefütterten starben 8 = 88,88%. Unter den 8 gestorbenen Mäusen waren 7, bei denen die während der Hungerperiode vorgenommenen Kotuntersuchungen zum Nachweis der verfütterten Bakterien geführt hatten. Die Bakterien fanden sich wieder in den Organen sämtlicher gestorbener Mäuse.

Tabelle VI.

Laufende Nr.	Impf-Tier	Verfütterte Kultur	Menge der Kultur	Dauer und Zeit der Kulturfütterung	Wie lange gehungert	Bakt. Kotbefund während der Hungerperiode		Gefütterte Fleischprobe	Dauer der Fleischfütterung	Ergebnis der Fleischfütterung		Befund bei den gestorbenen Mäusen
					Tage	1. Tag	2. Tag	Nr.	Tage	Maus bleibt leben	Maus † n. Tagen v. Beginn d. Fleischfütterung	
1	1 weiße Maus	Bac. enterid. Gärtner	75 ccm B.-K.	4 Tage vor 40 Tagen	$2^1/_2$	+	+	68	5		n. 3 Tagen	positiv u. typisch
2	desgl.	B. paratyph. B. Saarbrücken	2 ccm B.-K.	2 Tage vor 40 Tagen	$2^1/_2$	+	+ +	69	5		Am 1. Tag der Fleischfütterung. Die Mäuse hatten jedoch noch kein Fleisch gefressen	desgl.
3	desgl.	B. enterit. Aertryk	2,5ccm B.-K.	5 Tage vor 53 Tagen	$2^1/_2$	+	+	62	5			desgl.
4	2 weiße Mäuse	B. paratyph. B. Clauß	1 Öse Agarkultur	1 Tag vor 40 Tagen	$2^1/_2$	– +	— –	66	5	+	n. 11 Tagen	desgl.
5	desgl.	B. paratyph. B. Clauß	0,1ccm B.-K.	1 Tag vor 32 Tagen	$2^1/_2$	– –	+ –	34	5		„ 4 „ „ 5 „	desgl.
6	desgl.	B. enterit. Rausche	0,1ccm B.-K.	1 Tag vor 18 Tagen	$2^1/_2$	+ –	+ —	61	5		„ 10 „ „ 10 „	desgl.
7	desgl.	Ganz gesunde, längere Zeit beobachtete Mäuse	Kontrolle zu Nr. 1		$2^1/_2$	— —	— —	68	5		„ 10 „ „ 10 „	negativ
8	desgl.		Kontrolle zu Nr. 2		$2^1/_2$	—	–	69	5		„ 8 „ „ 8 „	desgl.
9	desgl.		Kontrolle zu Nr. 3		$2^1/_2$	—	— –	62	5	+ +		desgl.
10	desgl.		Kontrolle zu Nr. 4		$2^1/_2$	– –	— —	66	5	+	„ 8 „	desgl.
11	desgl.		Kontrolle zu Nr. 5		$2^1/_2$	– –	— —	34	5	+	„ 8 „	desgl.
12	desgl.		Kontrolle zu Nr. 6		$2^1/_2$	– —	— —	61	5	+	„ 9 „	desgl.

B.-K. = Bouillon-Kultur.

Von den 12 Kontrollmäusen, von denen keine vor der Anstellung des Fütterungsversuchs verdächtige Bakterien mit dem Kot nachweislich ausschied, starben 7 = 58,33 %. Bei keiner dieser Mäuse sind in den Organen die gesuchten Bakterien zu finden gewesen. Bemerkenswert ist noch, daß 3 von den Dauerausscheidern schon am Ende der Hungerperiode, also vor Beginn der Fleischfütterung starben, und daß auch bei ihnen ein typischer und positiver Befund zu verzeichnen war.

Aus den angestellten Versuchen ist zu entnehmen, daß sich bei Mäusen, in deren Darm Bakterien vom Enteritis-Typus zugegen sind, unter dem Einfluß schädigender Momente, wie Hungern und Fütterung von Pökelfleisch, die Einwanderung dieser Bakterien aus dem Darm in das Blut und in die Organe vollziehen kann. Diese Feststellung führt zu dem in praktischer Hinsicht beachtenswerten Ergebnis, daß es nicht zulässig ist, aus Fleischverfütterungsversuchen bei weißen Mäusen mit darauffolgendem Tode der Versuchstiere und Fund von Bakterien der Enteritis-Gruppe in ihren Organen ohne weiteres einen Rückschluß auf das Fleisch als Todesursache zu ziehen. Für eine derartige Schlußfolgerung ist vielmehr, wie schon hervorgehoben, der direkte Nachweis der Bakterien im Fleische erste und unerläßliche Voraussetzung.

Außer Fütterungsversuchen haben Mühlens, Dahm und Fürst auch noch subkutane Impfungen mit einzelnen Fleischproben an weißen Mäusen ausgeführt. Von 9 Fleischproben (36, 37, 47, 49, 50, 51, 53, 54, 55) wurde je einer weißen Maus ein kleines Stückchen Fleisch aus der Bouillonaufschwemmung, die 24 Stunden bei 37 ° C gehalten war, unter die Haut an der Schwanzwurzel gebracht. Alle geimpften Mäuse starben unter starker Abmagerung. Bei der bakteriologischen Untersuchung der mit den Fleischproben 49, 50, 51, 53, 54 und 55 geimpften Mäuse wurden keine pathogenen Bakterien nachgewiesen; dagegen fanden sich Enteritis-Bazillen bei den mit den drei übrigen geimpften, und zwar waren sie bei der mit Probe 36 geimpften im Herzblut und Milz, bei der mit Fleischprobe 37 subkutan infizierten im Herzblut und Darm zugegen; die mit Probe 47 geimpfte Maus enthielt die Bakterien außer in der Milz auch noch an der Impfstelle.

Das Ergebnis dieser Versuche scheint die Ansicht zu bestätigen, daß in den drei positiven Fällen das Fleisch Träger der Bazillen war. Bei näherer Prüfung erweist sich aber eine solche Auffassung nicht als zwingend. In erster Linie fällt auf, daß nur 3 unter den 9 Fleischproben bei der subkutanen Impfung Mäuse töteten, während doch die übrigen nach Maßgabe des Ergebnisses der Fütterungsversuche Enteritis-Bazillen beherbergen sollten. Sodann ergibt sich ein Widerspruch in Hinsicht auf die Fleischprobe Nr. 37. In ihr konnten weder bei der kulturellen Untersuchung noch bei der Verfütterung Enteritis-Bakterien gefunden werden, dagegen waren sie bei der subkutanen Impfung im Herzblut und Darm der gestorbenen Maus zugegen. Endlich fällt auf, daß nur bei der mit Probe 47 geimpften Maus Bakterien an der Impfstelle vorhanden waren, nicht aber auch bei den mit den Proben 36 und 37 geimpften. Gerade dieser Umstand, sowie das negative Ergebnis der kulturellen Untersuchung verlangen eine andere Erklärung als die, daß die Fleischproben die Enteritis-Bazillen enthielten. Man könnte versucht werden, diese Erklärung in der Annahme zu finden, daß die

subkutane Impfung mit Pökelfleisch den Mäusekörper schädigt und unter diesem Einfluß ein Übertritt der Bakterien aus dem Darm in das Blut, die verschiedenen Organe und vielleicht auch an die Impfstelle vor sich geht. Zur experimentellen Prüfung dieser Annahme auf ihre Berechtigung impften wir je eine weiße Maus mit den Fleischproben 51 – 56 (vergl. Tabelle I); diese Mäuse blieben am Leben. Wesentlich anders fiel aber das Ergebnis der Impfung von solchen Mäusen aus, die nachweislich Enteritis-Bakterien beherbergten und mit dem Kote ausschieden. Fünf weiße Mäuse erhielten wiederholt Bouillon- und Agarkulturen des Bac. Enteritis Gärtner per os. Drei von ihnen starben, zwei blieben am Leben. Diese und eine Kontrollmaus wurden mit einem erbsengroßen Stückchen aus einem einwandfreien Schinken subkutan geimpft. Die eine von den mit Enteritis-Bazillen gefütterten Mäusen starb 2 Tage nach der Impfung. Der Befund war typisch im Sinne einer Enteritisinfektion: neben einer Schwellung von Milz und Leber bestand eine starke Injektion der Darmgefäße, eine Trübung des Herzmuskels und eine serös-hämorrhagische Infiltration der Impfstelle. Das zur Impfung benutzte Fleischstückchen, vor der Verimpfung rotbraun und ziemlich fest, war grauweiß, mürbe und brüchig geworden. Aus Herzblut, Leber, Milz, Nieren und von der Impfstelle der gestorbenen Maus konnten typische Kolonien von Enteritis-Bazillen gewonnen werden.

In einem zweiten Versuch erhielten 4 weiße Mäuse per os 3 Ösen Agarkultur des Stammes Sirault an 3 verschiedenen Tagen. Von diesen Mäusen starb eine infolge der Kulturfütterung. Zwei der überlebenden wurden subkutan mit einem erbsengroßen Fleischstückchen geimpft; die eine starb nach 3, die andere nach 4 Tagen. Bei beiden fanden sich die gefütterten Bakterien außer in den Organen auch an der Impfstelle.

Mit diesen Versuchen ist der Beweis erbracht, daß Mäuse, die Enteritis-Bazillen in ihrem Darm enthalten, bei subkutaner Impfung mit Pökelfleisch unter dem Bilde einer Enteritisinfektion eingehen können, wenngleich das Fleisch frei von solchen Bazillen ist.

Es schädigt also die Impfung mit Pökelfleisch den Mäuseorganismus und begünstigt damit die Infektion durch saprophytisch im Darm lebende pathogene Bakterien. Diese infektionsfördernde Wirkung einer solchen Impfung scheinen auch folgende Versuche zu beweisen. Eine Maus erhielt intraperitoneal 0,05 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur des Bac. Enteritis Gärtner und starb nach 5 Tagen; eine zweite, in derselben Weise geimpfte Maus wurde außerdem noch mit einem erbsengroßen Stückchen Schinken geimpft, sie starb schon nach 36 Stunden.

In einem zweiten Versuch mit der nämlichen Anordnung, wobei eine Mäusetyphusbouillonkultur benutzt wurde, starb die mit Kultur allein geimpfte Maus nach 2 Tagen, die andere schon nach 24 Stunden. Aus diesen beiden Versuchen läßt sich gleichfalls der Schluß ableiten, daß in der Tat die Verimpfung von Pökelfleisch eine Enteritisinfektion fördert und die tödliche Wirkung des schon vor der Impfung im Mäusekörper enthaltenen Virus beschleunigt.

Ganz besonders verdient noch hervorgehoben zu werden, daß wir bei denjenigen Mäusen, die als Dauerausscheider der subkutanen Verimpfung von Pökelfleisch unter

dem Bilde einer Enteritisinfektion erlegen waren, auch an der Impfstelle die Gärtner- und Sirault-Bazillen nachweisen konnten. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Bazillen an die Impfstelle durch die Blutbahn verschleppt wurden. Möglich ist es aber auch, daß sie an der Körperfläche der Versuchsmäuse hafteten und bei oder nach der subkutanen Impfung in die Impfwunde gelangten, selbst wenn die übliche Desinfektion der Impfstelle vor Vornahme der Impfung ausgeführt wurde. Wir konnten uns durch die bakteriologische Untersuchung der Haare von solchen Mäusen, die Enteritis-Bazillen auschieden, überzeugen, daß sich die Bazillen an den Haaren und der Körperoberfläche finden. Dies ist auch verständlich, denn die Mäuse kommen ja bei dem Wühlen in der als Einstreu gebotenen Unterlage mit ihrem eigenen Kote in Berührung.

Von Interesse war uns auch die Prüfung der anscheinend völlig gesunden Dauerausscheider darauf, ob ihr Blutserum spezifische Reaktionsstoffe enthielt. Da wir Krankheitserscheinungen bei den zu den Versuchen ausgewählten Dauerausscheidern nicht beobachten konnten, so schien uns der positive Ausfall einer derartigen Reaktion von vornherein sehr wenig wahrscheinlich. Diese Annahme wurde bestätigt durch Versuche, die wir an 3 Mäusen anstellten. Die eine war 54 Tage zuvor mit dem Fleischvergiftungserreger Sirault, die zweite 46 Tage vorher mit dem Stamm Känsche und die dritte vor ebenso vielen Tagen mit einem Paratyphus-B-Stamm gefüttert worden. Bei den beiden ersten war die Agglutination im Verhältnis von 1 : 20 unvollständig, bei der dritten in diesem Verhältnis positiv, bei 1 : 50 dagegen negativ ausgefallen. Bei 3 Mäusen, die fünfmal mit Bouillon- und Agarkultur eines Gärtner-Stammes gefüttert worden waren, fiel die am achten Tage nach der letzten Fütterung im Verhältnis von 1 : 50 vorgenommene Agglutinationsprobe negativ aus. Dasselbe war der Fall bei 3 Mäusen, die dreimal in dreitägigen Zwischenräumen je 3 Ösen einer Agarkultur des Stammes Sirault erhalten hatten. Die Agglutination war bei diesem Versuch drei Tage nach der letzten Fütterung vorgenommen worden. Aus diesen Agglutinationsergebnissen könnte, was beiläufig erwähnt sein möge, auf eine durch die Fütterung erworbene Immunität bei jenen Mäusen nicht geschlossen werden.

Die durch das Experiment gestützte Tatsache, daß Mäuse künstlich ihnen zugeführte Enteritis-Bakterien, ohne krank zu werden, in ihrem Verdauungstraktus beherbergen und mit dem Kot ausscheiden können, schließt die Möglichkeit der Weiterverbreitung solcher Bakterien von Maus zu Maus in sich. Mühlens, Dahm und Fürst haben ein derartiges Vorkommnis bei ihren Versuchen erwogen und festgestellt, daß mit ihm zu rechnen ist. In einen Käfig, in dem 3 weiße Mäuse im Anschluß an eine Fleischfütterung eingegangen waren, setzten sie nach deren Herausnahme 3 gesunde Mäuse, die mit Brot und Hafer gefüttert wurden; diese 3 Mäuse starben nach 6—8 Tagen; bei allen 6 wurden Bazillen vom Typus Enteritis II vorgefunden. Von weiteren 4 Mäusen, mit denen der nämliche Versuch wiederholt wurde, starb eine nach 17 Tagen mit dem gleichen Befund.

Auch wir konnten uns von der Verbreitung der Bakterien auf dem angegebenen Wege experimentell überzeugen. Eine Maus, die mit dem Kote Bazillen (Stamm Aertryck) ausschied, wurde mit einer, verdächtige Bakterien nicht ausscheidenden

zweiten Maus zusammen in ein Glas gesetzt. Am fünften Tage nach Beginn des Versuchs wurden im Kot der zweiten Maus die nämlichen Bakterien nachgewiesen, die von der ersten ausgeschieden wurden. Diese Maus blieb am Leben, starb aber später im Anschluß an eine Fütterung von gepökelter Gänsebrust und bot in ihren Organen einen positiven Bakterienbefund.

In einem zweiten Versuch wurden zu 2 ausscheidenden Mäusen, die mit dem Enteritis-Stamm Sirault gefüttert worden waren, 2 andere gesetzt, deren Kot an drei unmittelbar vorausgehenden Tagen auf die Anwesenheit von verdächtigen Bakterien mit negativem Ergebnis untersucht worden war. Die eine der beiden letzteren schied am zweiten Tage, die andere am 17. Tage die Sirault-Bakterien mit dem Kot aus. Sämtliche Mäuse blieben am Leben und zeigten nie Krankheitserscheinungen.

Damit ist in Übereinstimmung mit den Feststellungen von Mühlens, Dahm Fürst die Weiterverbreitung der Enteritis-Bakterien von Maus zu Maus dargetan und es ist hiernach erklärlich, daß in einem Mäusebestand eine größere Zahl von Tieren Träger solcher Bakterien sein kann, ohne daß dies etwa durch das gehäufte Auftreten von Krankheitsfällen zum Ausdruck zu kommen braucht.

Durch Untersuchungen von Grabert und von Uhlenhuth wissen wir, daß im Darm von ganz gesunden Schweinen Bazillen angetroffen werden, deren Unterscheidung vom Paratyphus-B-Bazillus und einer gewissen Gruppe von Fleischvergiftungserregern bis jetzt nicht möglich ist. Auch bei gesunden Kälbern und Schafen (Uhlenhuth, Andrejew), im Kot eines gesunden Pferdes (Titze und Weichel), ferner einer Ratte (Uhlenhuth und Schern) wurden Bakterien mit Eigenschaften der Paratyphus-B-Bazillen angetroffen. Es war daher keineswegs ausgeschlossen, daß Bazillen des einen oder andern Enteritis-Typus als Darmbewohner bei gesunden Mäusen vorkommen können. Diese Möglichkeit haben Uhlenhuth und Hübener auch schon angedeutet.

Wie schon eingangs erwähnt, untersuchten wir den Kot einer jeden zu den Fütterungsversuchen bestimmten Maus und auch anderer auf die Anwesenheit von Enteritis-Bakterien. Unter 177 so untersuchten Mäusen konnten wir 28 als Träger von Enteritis-Bazillen ermitteln, ein Beweis dafür, daß diese Bakterien als Darmparasiten gar nicht allzu selten vorkommen. Von einer einzigen solchen Bazillenträgerin können die Bazillen auf viele andere Mäuse übertragen werden. Ob man diese Bakterien als virulente Mäusetyphusbazillen, als Schweinepest- oder als Paratyphus-B-Bazillen ansprechen will, ist gleichgültig, da wir ja mit den heutigen technischen Hilfsmitteln die Angehörigen dieser Gruppen nicht voneinander zu trennen vermögen. Wesentlich ist nur, daß anscheinend ganz gesunde Mäuse solche Bakterien beherbergen und ausscheiden können. Damit gesellt sich zu den früher angeführten Gründen ein weiterer und sehr triftiger, um dem Mäusefütterungsversuch zum Zweck des Nachweises von Enteritis-Bakterien in animalen Nahrungsmitteln die Beweiskraft zu versagen[1]).

[1]) In einer nach Abschluß unserer bezüglichen Untersuchungen erschienenen Arbeit (Zentralblatt für Bakteriologie XLIX Bd., 5. H., S. 611), die sich auch mit der Nachprüfung der Untersuchungen von Mühlens, Dahm und Fürst befaßt, teilt Holth aus dem veterinärbakteriologischen Institut zu Kopenhagen das mit dem unsrigen gleichlautende Ergebnis von Fleischfütterungsversuchen mit.

Die Ergebnisse unserer Versuche fassen wir in folgenden Sätzen zusammen:

1. Die von Mühlens, Dahm und Fürst aus ihren Fütterungsversuchen mit gepökeltem Fleisch unter Vorbehalt abgeleitete Folgerung, daß Bakterien vom Enteritis-Typus I (Flügge) oder vom Enteritis-Typus II (Gärtner) auch in anscheinend normalen Fleischarten, namentlich in ungekochtem Schweinefleisch und Gänsepökelfleisch vorkommen, hat durch unsere Untersuchungen keine Bestätigung gefunden.

2. Zum Nachweis von sogenannten Fleischvergiftungserregern ist der Mäusefütterungsversuch ungeeignet, weil er positive Ergebnisse vortäuschen kann; dies ist namentlich bei der Verfütterung von gepökeltem und geräuchertem Fleisch der Fall.

3. Im Darm anscheinend gesunder Mäuse kommen nicht selten Enteritis-Bazillen vor. Unter dem Einfluß schädigender Momente, wie z. B. einseitiger Fleischfütterung, können diese Bakterien aus dem Darm in das Blut und hiermit auch in die Organe der Brust- und Bauchhöhle einwandern.

Groß-Lichterfelde, Juni 1909.

Literatur.

1. Bonhoff, Über die Identitt des Löfflerschen Mäusetyphusbazillus mit dem Paratyphusbazillus des Typus B. Archiv f. Hygiene Bd. 50, 1904, S. 222.

2. Dieudonné, Die bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen. Würzburger Abhandlungen aus dem Gesamtgebiet der praktischen Medizin. VIII. Bd. 3. u. 4. Heft.

3. Grabert, Zur Herkuuft des Bacillus suipestifer. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere. Bd. 3, Heft 1 u. 2, S. 218 u. 219.

4. Holth, Fütterungsversuche an weißen Mäusen mit Fleischwaren verschiedener Herkunft. Zentralbl. f. Bakteriologie. Orig. Bd. XLIX, Heft 5, S. 611.

5. Korte, Ein Beitrag zur Kenntnis des Paratyphus. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten Bd. 44, 1908, S. 254.

6. Kutscher und Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten Bd. 52, 1906, S. 301—392.

7. Löffler, Über Immunisierung per os. Gedenkschrift für Rudolph v. Leuthold. 1. Band 1906, S. 247.

8. Marks, Fütterungsstudien an Mäusen mit einem Bazillus der Paratyphusgruppe. Arbeiten aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. Heft 4, 1908.

9. Mühlens, Dahm und Fürst, Untersuchungen über Bakterien der Enteritis-Gruppe (Typus-Gärtner und Typus-Flügge), insbesondere über die sogenannten „Fleischvergiftungserreger" und die sogenannten Rattenschädlinge. Zentralbl. f. Bakteriologie I. Abteil. Orig. Bd. XLVIII, Heft 1, S. 1—20.

10. Ostertag, R., Handbuch der Fleischbeschau. Über Fleischvergiftungen. 5. Auflage. 1904, XIII, 2, S. 621—645.

11. Derselbe, Was bedeutet der Befund eines Bakteriums mit den Eigenschaften des Bacillus paratyphaeus beim Fleisch? Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene. 19. Jahrg. Heft 3, S. 102 u. 103.

12. Rüther, Ein Wort zur bakteriologischen Fleischbeschau. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 19. Jahrgang. Heft 5, S. 170.

13. Smidt, Zur Charakterisierung der Hog-Cholera-Gruppe. Zentralbl. f. Bakteriologie 1. Abteilung, Orig. Bd. 38, 1905, Heft 1, S. 24—30.

14. Titze und Weichel, Die Ätiologie der Kälberruhr. Berliner tierärztliche Wochenschrift 1908, Nr. 26.

15. Uhlenhuth, Zur Kenntnis der gastrointestinalen Fleischvergiftungen und der biologischen Eigenschaften ihrer Erreger. Gedenkschrift f. R. von Leuthold, Bd. 1, S. 69–99, 1906.

16. Uhlenhuth und Hübener, Weitere Mitteilungen über Schweinepest mit besonderer Berücksichtigung der Bakteriologie der Hog-Cholera-Gruppe. Zentralbl. f. Bakteriologie, Orig. Bericht über die Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie am 11., 12. und 13. Juni 1908, Beil. zu Abt. I, Bd. XLII, Referate.

17. Dieselben, Über die Verbreitung der Bakterien der Paratyphus B- und Gärtner-Gruppe und ihre Beziehungen zur gastrointestinalen Form der Fleischvergiftungen. Sonderabdruck aus der „Medizinischen Klinik" 1908.

18. Yoshida, Über Immunisierung per os. Archiv f. Hygiene, 69. Bd., 1. Heft, S. 21.

Über eine neue Art von Reagenzglasgestellen für bakteriologische Zwecke.

Von

Dr. Woithe,

Kgl. Bayer. Oberarzt, kommandiert zum Kaiserl. Gesundheitsamte.

Bei der Konstruktion der zurzeit gebräuchlichen Reagenzglasgestelle sind die Bedürfnisse des chemischen Laboratoriums maßgebend gewesen. Für den Chemiker sind sie daher auch durchaus zweckmäßig. Er benutzt sie, um seine Reagenzröhrchen schnell zur Hand nehmen und sie nach dem Gebrauch ebenso schnell wieder wegstellen zu können. Auch dem Bakteriologen, der sie vom Chemiker übernommen hat, leisten sie zweifellos für viele Zwecke ausgezeichnete Dienste. Immerhin haften ihnen manche Mängel an, die sich beim Gebrauch im bakteriologischen Laboratorium bisweilen unangenehm fühlbar machen. Hier dienen sie ja nicht nur als Vorrichtung zum raschen Abstellen der Gläschen; sie müssen vielmehr oft viele Röhrchen, bisweilen für ziemlich lange Zeit, in Reihen übersichtlich vereinigen, damit man ihren Inhalt und dessen Veränderungen vergleichend beobachten kann. Dieser Art der Verwendung sind sie nun nicht besonders gut angepaßt. Es sei nur auf die Gefahren hingewiesen, die sich beim Transport der in den gewöhnlichen Gestellen befindlichen Röhrchen ergeben, sofern sie infektiöses Material erhalten. Wie leicht gleiten sie schon bei geringen Erschütterungen aus ihren Fächern heraus! Um in dieser Richtung Abhilfe zu schaffen, konstruierte ich Gestelle, die auch sonst für den Bakteriologen manche Vorzüge haben dürften und ihm vielleicht neben den bisher gebräuchlichen gute Dienste leisten werden. Für den Chemiker sind sie — das sei ausdrücklich bemerkt — nicht so vorteilhaft, es sei denn, daß er in der Lage ist, Serien von Reagenzgläsern demonstrieren zu müssen.

Meine Gestelle sind aus kräftigen Holzbrettchen angefertigt und bestehen aus Grundplatte, je zwei Seitenteilen — deren Form Fig. 1 erkennen läßt — und oberer Verbindungsleiste. An der letzteren sind beiderseits in regelmäßigen Abständen gut federnde Klammern aus Neusilberblech befestigt, die den oberen Teil der Reagenzgläser festhalten sollen. Diesen Klemmen entsprechend befinden sich im Grundbrett zylindrische Vertiefungen, die dazu bestimmt sind, die Kuppen der Röhrchen in sich aufzunehmen.

Das Einsetzen der Reagenzgläser geschieht so, daß man zunächst die Kuppe in die betreffende Vertiefung des Bodenbrettes steckt und dann das Röhrchen in die

zugehörige Klammer hineinhebelt. Ganz entsprechend muß beim Herausnehmen der Gläser verfahren werden. Der betr. Handgriff ist sehr einfach und in kürzester Zeit zu erlernen. Es sei ausdrücklich davor gewarnt, die Röhrchen von oben in die Klammern zu schieben bezw. nach oben aus ihnen herauszuziehen. Eine einfache Überlegung ergibt, daß sich die Gläser dann infolge Verziehens der Feder festklemmen müssen, so daß sie Gefahr laufen, zerbrochen zu werden, weiterhin, daß sich die Klammern dabei notwendig lockern werden. Es muß also unbedingt sowohl beim Einsetzen wie Herausnehmen gehebelt werden, so zwar, daß der Dreh- bezw. Unterstützungspunkt des einarmigen Hebels in der Vertiefung des Bodenbretts liegt.

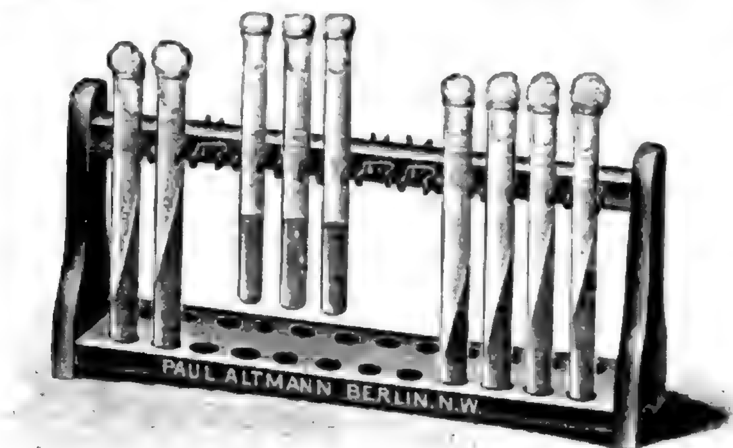


Fig. 1.

Die Klammern passen sich infolge ihrer bedeutenden Federkraft der verschiedenen Weite der Reagenzgläschen an. Trotzdem wird es bei Verwendung von Röhrchen, deren Durchmesser in weiten Grenzen differieren, leicht vorkommen, daß die Klammern durch besonders weite Gläser zu stark aufgebogen werden, um danach engere noch festhalten zu können. Dem ist leicht abzuhelfen, man braucht die aufgebogene Feder nur kräftig zwischen Daumen und Zeigefinger zusammenzudrücken, dann umfaßt sie auch die dünneren Röhrchen wieder fest.

Werden besonders weite Röhrchen verwendet, so kann es geschehen, daß die Enden benachbarter Klammern sich berühren. Dann hört natürlich das Federn auf, und es kann daher vorkommen, daß infolge der Starrheit des fixierten Blechs die Röhrchen zerspringen. Derartigen unliebsamen Vorkommnissen läßt sich aber leicht vorgebeugen; man braucht nur abwechselnd engere und weitere Gläschen — von den gebräuchlichen Röhrchen haben ja kaum zwei genau denselben Durchmesser — einzuspannen.

Die in den Handel gebrachten Gestelle sind zur Aufnahme von 2 Reihen von je 12, also im ganzen 24 Röhrchen bestimmt. Ihre Länge ist so bemessen, daß sie der Tiefe eines mittelgroßen Brutschranks entspricht; so läßt sich dessen Innenraum am besten ausnützen.

Außer der beschriebenen einfachen Form des ursprünglichen Modells werden von der Firma Paul Altmann noch einige von mir für besondere Zwecke konstruierte Modifikationen fabriziert, die ich ebenfalls kurz besprechen möchte:

Unter Umständen — z. B. wenn es sich um das Vergleichen von Kulturserien (etwa bei Verwendung einer größeren Zahl der modernen, farbigen Spezialnährböden) handelt — ist es von Nutzen, daß die Reagenzröhrchen in den Gestellen alternieren, d. h. so stehen, daß die Gläser der hinteren Reihe durch die Lücken der vorderen

sichtbar werden. Bei dieser Anordnung vermag man sämtliche Röhrchen von einer Seite aus zu übersehen. Damit nun beim Vergleichen der zwei Reihen keine Verwechslungen entstehen, sind auf dem Grundbrett von vorn nach hinten schräge Linien gezogen, so daß numerierte rautenförmige Felder entstehen, von denen jedes je ein Röhrchen der vorderen und das zugehörige der hinteren Reihe in sich faßt. Man kann so nie in Verlegenheit kommen, da man stets weiß, welche Gläser zusammengehören (vergl. Fig. 2).

Fig. 2.

In manchen Laboratorien, wo oft eine große Zahl von Reagenzglasgestellen in einen Brutschrank gestellt werden muß, empfindet man es häufig unangenehm, daß der Innenraum des Thermostaten nicht genügend ausgenützt werden kann. Dem läßt sich aber leicht abhelfen. Man braucht nur ein den Innenmaßen des Brutschranks angepaßtes einfaches Leistengestell, wie es in Fig. 3 abgebildet

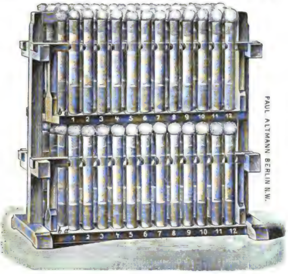


Fig. 3.

ist, zu beschaffen. Die horizontalen Querleisten desselben haben Ausschnitte, in die man Reagenzglasgestelle in der aus der Abbildung ersichtlichen Weise einhängt. Bei Verwendung des abgebildeten Gestells, von dem bequem zwei Stück in einen mittleren

Digitized by Google

Brutschrank passen, vermag man dann in letzterem ohne Schwierigkeiten 192 Reagenzgläser unterzubringen, die mit zwei Griffen — in jeder Hand ein Gestell mit 4 × 24 = 96 Röhrchen — hineingesetzt, herausgenommen und mit größter Sicherheit transportiert werden können.

Wer bakteriologische Kurse abhält oder gelegentlich eines Vortrags Kulturen usw. zu demonstrieren hat, wird sich mit Vorteil des von mir konstruierten Demonstrationsgestells, wie es in Fig. 4 dargestellt ist, bedienen. Eine genauere Beschreibung erübrigt sich, da die Abbildung alles Wesentliche erkennen läßt. Der obere Teil des Drahtbügels dient als bequeme Handhabe. Da die Reagenzgläser durch je zwei Klammern besonders fest gehalten werden, kann man mit dem Gestell, auch wenn infektiöses Material in den Röhrchen ist, sorglos umgehen, es z. B. ohne Bedenken im Auditorium zirkulieren lassen. Die Befestigung der Röhrchen mittels zweier Klammern bietet außer der größeren Sicherheit noch den weiteren Vorteil, daß die Kuppen der Gläser nicht in Vertiefungen, sondern völlig frei stehen und ohne weiteres zu übersehen sind. Bei der eigenartigen etagenförmigen Anordnung der Gläschen — die hintere Reihe steht tiefer als die vordere — vermag man die Röhrchen beider Reihen ganz gut miteinander zu vergleichen. Die Gläser können hier natürlich nicht in die Klammern gehebelt werden, man muß sie vielmehr in die Klemmenpaare von vorn hineindrücken. Der geringe Mehraufwand an Zeit ist hier natürlich von keiner Bedeutung.

Fig. 4.

Ich fasse im folgenden die Vorzüge meiner Reagenzglasgestelle kurz zusammen und weise dabei auf einige besonders bemerkenswerte Punkte hin:

1. Die Gestelle gewähren eine weitgehende Sicherheit. Da sie aus kräftigem Holz verfertigt sind, stehen sie sehr fest. Ein Herausrutschen der von den Klammern fest umfaßten Reagenzgläser ist völlig ausgeschlossen. Man kann infolgedessen sorglos mit den Gestellen umgehen, eine Anzahl ohne Gefahr gleichzeitig transportieren, sie herumgeben und einem größeren Auditorium demonstrieren.

Digitized by Google

2. Die Gestelle nehmen wenig Raum ein. Da sie schräg gestellt werden können, lassen sie sich bei Platzmangel auch in Lücken unterbringen. Die besondere, in Fig. 3 wiedergegebene Anordnung ermöglicht z. B. eine rationelle Ausnützung des Innenraumes von Thermostaten usw.

3. Die Röhrchen lassen sich in jeder Höhe feststellen — vergl. Fig. 1 —. Man kann so den Inhalt der Kuppen der Beobachtung zugänglich machen. Das ist besonders angenehm bei hämolytischen, Komplementbindungs-Versuchen usw. Wenn die Röhrchen der beiden Reihen in verschiedenen Höhen festgestellt werden, kann man sie alle gleichzeitig übersehen und vergleichen. Diese Übersichtlichkeit wird noch durch die oben beschriebene alternierende Anordnung der Gläschen erhöht; hier beobachtet man die hintere Röhrchenreihe durch die Lücken der vorderen hindurch. Diese Gestelle eignen sich besonders dann, wenn größere Reihen von Kulturen — z. B. Typhus, Paratyphus, Coli usw. auf den modernen farbigen Nährböden — längere Zeit vergleichend beobachtet werden sollen. Ein Blick zeigt dann, in welcher Beziehung die einzelnen Bakterienarten sich kulturell gleich, in welcher sie sich verschieden verhalten.

4. Sämtliche Röhrchen können behufs Durchmischung der eingefüllten Flüssigkeiten sowie Verteilung von Niederschlägen gleichzeitig geschüttelt werden.

5. Das Herausziehen der Wattestopfen vor dem Einfüllen der Serumverdünnungen, das bei umfangreicheren serologischen Versuchen einen lästigen Zeitverlust bedingt, geht hier, da nicht die einzelnen Röhrchen, sondern das Gestell festgehalten wird, sehr rasch von statten.

6. Auf die in den Gestellen fixierten Röhrchen kann man wie auf eine Tafel schreiben, keins braucht dazu herausgenommen zu werden.

7. Es erübrigt sich überhaupt bei den meisten Manipulationen, die Röhrchen aus dem Gestell zu nehmen. So läßt sich z. B. das Ansetzen und Einfüllen von Serumverdünnungen sehr bequem ausführen, indem man mit der rechten Hand die Pipette, mit der linken das Gestell anfaßt und letzteres in geeigneter Weise neigt.

8. Man kann die Gestelle so halten, daß die in ihren Klammern fixierten Röhrchen horizontal übereinander liegen. Dadurch wird die Beobachtung des Agglutinationsphänomens in längeren Reihen erheblich erleichtert. Man braucht so nicht für jedes einzelne Gläschen die richtige Beleuchtung zu suchen, sondern stellt nur eins passend ein und führt dann das Gestell mit den horizontal fixierten Röhrchen vor den Augen ruhig auf und ab. Auf diese Weise lassen sich lange Reihen fast mit einem Blick übersehen und die Abstufungen des Phänomens gut erkennen.

Diesen Vorzügen steht als einziger Nachteil die geringe Unbequemlichkeit beim Einsetzen und Herausnehmen der Reagenzgläser gegenüber. Ein wenig Übung hilft auch darüber hinweg: wer mit den Gestellen öfter arbeitet, kommt bald dahin, daß er die Röhrchen fast ebenso schnell und leicht einsetzt und herausnimmt wie bei den gebräuchlichen Gestellen.

Die oben beschriebenen Gestelle sind von der Firma Paul Altmann, Berlin NW, zu beziehen.

Neue Untersuchungen über die ätiologischen Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie (Diphtheria avium) und Geflügelpocken (Epithelioma contagiosum)[1].

Von

Prof. Dr. Uhlenhuth, Geh. Reg.-Rat und Direktor und **Dr. Manteufel**, wissenschaftl. Hilfsarbeiter

im Kaiserl. Gesundheitsamte.

In den einschlägigen Lehrbüchern findet man über die Beziehungen zwischen der Diphtherie und dem Epitheliom des Geflügels ziemlich verschiedene Anschauungen vertreten. So sprechen sich z. B. Hutyra und Marek in der 1905 erschienenen Auflage ihres Lehrbuches (1) folgendermaßen aus: „Die Geflügeldiphtherie ist eine akute kontagiöse und zumeist in epizootischer Verbreitung herrschende Krankheit, welche vornehmlich durch kruppöse und diphtherische Pseudomembranen auf den Schleimhäuten des Kopfes gekennzeichnet wird. Als Krankheitserreger wird zurzeit der von Löffler entdeckte Bacillus diphtheriae avium bezeichnet. Nachdem . . . , haben neuere Untersuchungen die Selbständigkeit der Geflügelpocken (früher sog. Gregarinosis) mit Sicherheit festgestellt . . . Die Geflügeldiphtherie wird zumeist mit der Geflügelpocke verwechselt, da im Verlauf beider Krankheiten auf den Schleimhäuten plattenartige Auflagerungen entstehen. Der Hauptunterschied besteht darin, daß bei der Diphtherie stets die Schleimhäute, bei der Geflügelpocke dagegen zumeist die Haut zuerst erkrankt und bei der letzteren die Auflagerungen nur lose an der Unterlage haften; größere Knoten auf der Haut werden stets durch das Pockenvirus erzeugt; endlich ist der Verlauf der Diphtherie ein rascherer und ihre örtliche Behandlung weniger wirksam . . . Die Geflügelpocke ist eine chronische kontagiöse Krankheit des Geflügels, welche durch knötchenförmige Epithelhyperplasien auf der Haut, namentlich jener des Kammes und der Kehllappen, sowie durch kruppösdiphtherische Auflagerungen auf den Kopfschleimhäuten gekennzeichnet und durch einen ultramikroskopischen Mikroorganismus erzeugt wird . . . Weiteren Untersuchungen bleibt es vorbehalten, noch genauer festzustellen, ob die häufige gleich-

---

[1]) Nach einem Vortrag gehalten von Uhlenhuth auf der Freien Vereinigung für Mikrobiologie zu Wien 4. Juni 1909 (Zentralbl. f. Bakt. Beilage zu Abt. I, Bd. 44, Referate. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1909, Nr. 41).

zeitige Erkrankung der Schleimhäute sowie der sich oft anschließende Darmkatarrh durch denselben Ansteckungsstoff hervorgerufen wird, oder ob diese Krankheitsprozesse sich zufolge einer sekundären Infektion einstellen . . . Die Schleimhaut des Maules und der Nase pflegt gewöhnlich sekundär im Anschluß an das Hautleiden, viel seltener primär zu erkranken."

Die beiden Autoren stützen also die Ansicht, daß die beiden in Frage stehenden Krankheitsprozesse verschiedener Natur seien, hauptsächlich darauf, daß die Diphtherie eine akut verlaufende Krankheit ist, die auf die Schleimhäute beschränkt bleibt und durch einen Bazillus hervorgerufen wird, während beim Epithelioma contagiosum primär zumeist Hauterscheinungen entstehen, die sich gewöhnlich erst sekundär auf die Schleimhäute verbreiten und einen chronischen Prozeß auslösen, der auf ein filtrierbares Virus zurückzuführen ist. Wie indes aus den beiden zuletzt zitierten Sätzen hervorgeht, halten sie weder die ätiologische Natur der das Epithelioma komplizierenden Schleimhautentzündungen für sicher bewiesen, noch die sekundäre Bedeutung dieser Schleimhautkomplikation überhaupt[1]).

In der 6. Auflage des Lehrbuches von Friedberger-Fröhner (2) (1904) findet man folgende auf unseren Gegenstand bezügliche Sätze: „Das Krankheitsbild der kruppös-diphtherischen, durch Spaltpilze erzeugten Schleimhautentzündung ist ein sehr polymorphes wie bei kaum einer anderen Krankheit. Bald ist die Schleimhaut der Maul- und Rachenhöhle ergriffen, bald die der Nasenhöhle und die auskleidende Membran der Nebenhöhlen, bald beschränkt sich die Affektion auf die Schleimhäute des Lidsackes und den Augapfel, bald kriecht sie von der Maulhöhle weiter in den Kehlkopf, den Trachealbaum, die Lungenalveolen, wieder in anderen Fällen ist der Darmkanal der Hauptsitz des Leidens. Endlich kann der Prozeß auch auf die allgemeine Decke übergehen . . . Die klinischen Erscheinungen der Geflügelpocken stimmen bezüglich der Erkrankung der Kopfschleimhäute mit denjenigen der Spaltpilzdiphtheritis vollkommen überein . . . Dagegen unterscheiden sich die Geflügelpocken von der eigentlichen Geflügeldiphtherie durch die viel häufigere Mitbeteiligung der Haut . . . Im großen und ganzen müssen die Geflügelpocken als gutartiger verlaufend bezeichnet werden als die Geflügeldiphtherie."

Irgend welche durchgreifenden klinischen Unterschiede sind nach den Angaben dieser Sachverständigen mithin überhaupt nicht vorhanden. Vielmehr begründen sie die getrennte Abhandlung der beiden Krankheitsformen lediglich damit, daß die Geflügelpocken durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen werden, während die Diphtherie eine Infektion mit mikroskopisch sichtbaren Spaltpilzen sein soll.

Kitt (3) (1905) sagt bei der Besprechung der Geflügelpocken u. a.: „Oft ist die Hauterkrankung neben diphtherischer Entzündung der Schnabelhöhle und Zunge sowie neben eitrig-käsigen Exsudationen der Lidsäcke und Kopfhöhlen vorhanden.

---

[1]) In der soeben erschienenen 2. Auflage (1909) des gleichen Buches haben die neueren Arbeiten zwar Berücksichtigung gefunden, indes vertreten die Autoren bezüglich der Ätiologie auch hier den Standpunkt, daß als Erreger der Diphtherie der Bacillus diphtheriae avium gilt, und nur die Geflügelpocken auf einem filtrierbaren Virus beruhen. Diejenigen Fälle von Geflügelpocken, wo außer der Haut auch die Schleimhäute erkranken, ließen sich möglicherweise auf eine Mischinfektion zurückführen.

Nach Marx und Sticker gehört der Mikrobe des Geflügelepithelioms in die Gruppe der filtrierbaren unsichtbaren Mikroben."

Auch hier wird die Geflügeldiphtherie ebenfalls gesondert abgehandelt und zwar finden sich folgende uns interessierende Sätze: „Diverse in den diphtherischen Belägen gefundene Spaltpilze und auch Protozoen und Blastomyceten sind als die Erreger dieser sogenannten Geflügeldiphtherie angesprochen worden; vorläufig können nur die von Löffler, Babes, Loir und Ducloux nachgewiesenen Bakterienarten (Bacillus diphtheriae avium, Bacillus diphtheriae columbarum) als solche gelten . . . Manchmal bestehen gleichzeitig Epitheliome der Haut, welche namentlich an der Schnabelwurzel, dem Kehllappen und Kamm, der Umgebung der Augen, Ohren und Nase, hier und da auch am After, als hirsekorn-, linsen- bis erbsengroße Knötchen oder warzige maulbeerartige Wucherungen ansässig werden."

Man erfährt hier also eigentlich nur, daß neben der Diphtherie Pocken, und neben den Pocken Diphtherie vorkommt, ferner, daß die Erreger beider Krankheitsprozesse mit Sicherheit noch nicht festgestellt sind.

Nocard und Leclainche (4) (1898) erwähnen nur eine „Diphthérie aviaire", als deren Erreger sie den von Löffler entdeckten Bazillus ansehen. Ob aber alle Diphtherieformen beim Geflügel bakteriellen Ursprungs sind, lassen sie unentschieden und sagen: „Alles in allem ist eine bakterielle Natur der Diphtherieerscheinungen sicher; die Existenz einer Protozoen-Diphtherie bleibt noch zu beweisen."

Schneidemühl (1908) beschreibt die beiden in Frage stehenden Krankheitsbilder unter der Überschrift „Geflügeldiphtherie" und spricht sich folgendermaßen aus (5): „Als Geflügeldiphtherie werden bis in die neueste Zeit hinein noch immer Krankheitsvorgänge beschrieben, die ätiologisch verschieden aufzufassen sind. Am besten gekannt sind die beim Geflügel vorkommenden diphtheritischen Erkrankungen der Schleimhäute, die durch bestimmte spezifische Spaltpilze hervorgerufen werden. Daneben kommen auch andere diphtherische Schleimhauterkrankungen, namentlich der Maulhöhle vor, die häufiger als bei der ersteren Form auch mit Hautaffektionen verbunden sind. Die Krankheitserreger dieser Diphtherieformen kennt man noch nicht genau, es ist nur festgestellt, daß dieselben filtrierbar sind (Marx und Sticker). Früher wurde angenommen, daß Gregarinen diese Form der Geflügeldiphtherie erzeugen, doch haben neuere Untersuchungen die Unrichtigkeit dieser bisherigen Ansicht dargetan. Eine weitere Unterscheidung der beiden Diphtherieformen kann auch darin gefunden werden, daß die durch spezifische Spaltpilze erzeugte Diphtherie des Geflügels künstlich sehr schwer auf andere Tiere übertragbar ist, während die andere, auch als Geflügelpocken bezeichnete Form, leicht überimpft werden kann . . . . . Hauterkrankungen zeigen sich (bei der eigentlichen Diphtherie) in Gestalt von geschwürigen Substanzverlusten an den Lidern, am Maulwinkel und in der Umgebung des Afters. Handelt es sich um die als Geflügelpocken bezeichnete Form der diphtherischen Erkrankung, dann tritt die Hauterkrankung stärker und in charakteristischerer Form hervor. Es entsteht Knötchenausschlag in der Haut, ein Epithelioma gregarinosum, das nach Bollinger viel Ähnlichkeit mit dem Molluscum contagiosum des Menschen hat."

Moore (6) spricht in der 1906 erschienenen zweiten Auflage seines Lehrbuches (Seite 430) die Ansicht aus, daß die wahre Ursache der Hühner- und Taubendiphtherie noch nicht bekannt sei. Weder er noch Ward habe in den Organen der erkrankten Tiere einen Bazillus aus der Gruppe der hämorrhagischen Septicämie gefunden. Die Geflügelpocken werden auch hier in einem besonderen Abschnitt, allerdings sehr kurz, besprochen.

Loir und Ducloux (7) haben in Tunis eine diphtherieähnliche Seuche des Geflügels (Hühner, Tauben, Kanarienvögel und Truthühner) beschrieben, die dort unter den volkstümlichen Namen Diphtherie, Cholera und Pocken bekannt war. Die Autoren halten die bei diesen diphtheriekranken und auch bei anscheinend gesunden Tieren beobachteten „pustules boutonneuses", die sie niemals auf Versuchstiere übertragen konnten, für eine harmlose Erkrankung, die mit der Diphtherie nichts zu tun hat. Als Erreger der Diphtherie bezeichnen sie einen Bazillus, der auch bei subkutaner Verimpfung diphtherische Erscheinungen der Kopfschleimhäute verursacht.

Während Moore (1895) in Nord-Amerika bei der Roupkrankheit der Hühner keine Beteiligung der äußeren Haut beobachtet hat (8), beschreibt Streit (1904) bei der gleichen Affektion dortselbst Tumoren in der äußeren Haut (9). „Dieselben," sagt er, „wurden stecknadelkof- bis kirschkerngroß. Die Federchen auf ihnen gingen bald verloren und bestand ihre Oberfläche dann aus grauen trockenen Schuppen. Sie standen mit den Pseudomembranen der Schleimhäute in direktem Zusammenhang und wurden durch eine graue, trocken-bröckelige Masse gebildet."

Löwenthal (10), Burnet (11), Reischauer (12) und Lipschütz (13) betrachten die Schleimhauterscheinungen in der Mundhöhle als Anzeichen der Pockenkrankheit. Dagegen trennt Reiner Müller (14) das Krankheitsbild der Geflügelpocken von dem der von ihm studierten Hühnerdiphtherie ab, indem er meint, daß es noch weiterer Untersuchung bedürfe, ob die bei Geflügelpocken beobachteten diphtherischen Affektionen durch die Erreger der Geflügelpocken verursacht werden oder auf sekundärer Infektion durch den Hühnerdiphtherie-Bazillus oder andere Keime beruhen.

1907 hat dann Carnwath (15) im Kaiserlichen Gesundheitsamte auf Veranlassung von Uhlenhuth bakteriologische Untersuchungen bei einer unter dem Bilde der Diphtherie verlaufenden Hühnerseuche angestellt, die zu dem Schlusse führten, daß zwar einzelne Bakterien häufig dabei gefunden würden, daß aber ein einheitliches bakteriologisches Bild nicht vorhanden sei. Durch einen zufälligen Befund wurde im weiteren Verlauf der damaligen Untersuchungen der Verdacht rege, daß die diphtherischen Erscheinungen vielleicht durch das Virus der Geflügelpocken bedingt sein könnten. Dieser Verdacht ließ sich später insoweit als richtig erweisen, als es gelang, durch Einreiben von abgelösten diphtherischen Belägen der Mundschleimhaut in den skarifizierten Kamm von Hühnern typische Pocken zu erzeugen. Rückimpfungen von solchem Pockenmaterial auf die skarifizierte Mundschleimhaut ergaben stets das Bild der ursprünglichen Diphtherie, auch nachdem das Virus Generationen hindurch von Kamm zu Kamm weitergeimpft worden war. Hühner, die eine „Diphtherie" überstanden hatten, verhielten sich bei der Nachimpfung mit dem gleichen Virus auf den Kamm

refraktär, und umgekehrt verlief auch die Wiederimpfung im Rachen bei den Hühnern, die eine experimentelle Kamminfektion überstanden hatten, ergebnislos. Carnwath schloß daraus, daß das Geflügelpockenvirus imstande sei, einen ziemlich chronisch verlaufenden, auf die Kopfschleimhaut beschränkten, entzündlich exsudativen diphtherischen Prozeß ohne wesentliche Mitbeteiligung der äußeren Haut hervorzurufen. Er schlug daher vor, in einem Falle von Hühnerdiphtherie ohne Hautveränderungen Impfungen auf den Kamm gesunder Hühner mit Diphtheriemembranen in der beschriebenen Weise vorzunehmen, da man nur so eine exakte Diagnose stellen könne.

Gegen diese Schlußfolgerungen hat Fally (16) auf Grund von Versuchen, die er mit Bordet zusammen angestellt hat, folgende Umstände ins Feld geführt, die seiner Meinung nach gegen die Identität von Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken sprechen. Erstens sei Bordet und ihm die Übertragung von diphtherischem Material von Hühnern auf den Kamm von Hühnern nicht gelungen; zweitens sei bei Diphtherie eine Übertragung weder von Tauben auf Hühner noch umgekehrt möglich, während die Geflügelpocken sich leicht von Tauben auf Hühner übertragen ließen; drittens entstanden bei intravenöser Verimpfung von diphtherischem Material auf der Haut keine Pocken, dagegen lassen sich bei der Pockenkrankheit nach Burnet und Löwenthal durch intravenöse Impfung Epitheliome auf der Haut erzeugen; viertens soll das Virus der Geflügelpocken im Blut kreisen, was bei der Diphtherie nach ihren Untersuchungen nicht der Fall ist.

Fally spricht schließlich die Ansicht aus, daß das Material, mit dem Carnwath gearbeitet hat, von einer zufälligen Mischinfektion zwischen Diphtherie und Pocken herrühren möge, die auch seiner Erfahrung nach ziemlich häufig vorkäme.

Auch Hausser (1908), der die Arbeit von Carnwath allerdings nicht gekannt hat, ist der Meinung (17), daß das Epitheliom im höchsten Falle den Boden für die sekundär einsetzende Bakteriendiphtherie vorbereitet, oder daß beide Krankheiten rein zufällig nebeneinander hergehen.

Durch diese zuletzt erörterten Gesichtspunkte war der Weg für weitere Untersuchungen vorgezeichnet, und es mußte sich zunächst darum handeln, festzustellen, ob die Beobachtung von Carnwath, daß man durch Einreiben von diphtherischem Material in den Kamm von Hühnern Impfpocken erzeugen könne, tatsächlich auf einer zufälligen Mischinfektion im Ausgangsmaterial beruht. Daß dies bei den Versuchen von Carnwath der Fall gewesen sei, war allerdings von vornherein wenig wahrscheinlich, da ihm die Rückimpfung vom Kamm auf den Rachen auch dann gelang, wenn mehrere Passagen von Kamm zu Kamm dazwischen lagen. Wir können hinzufügen, daß diese Rückimpfung vom Kamm auf den Rachen mit dem gleichen Virus, das Carnwath zu seinen Versuchen benutzt hat, auch jetzt noch gelingt, nachdem es zwei Jahre lang durch Verimpfung von Kamm zu Kamm fortgezüchtet worden ist. Man kann kaum annehmen, daß sich ein hypothetisches differentes Diphtherievirus in diesem Impfmaterial nach der Generationen dauernden Verdünnung durch zahlreiche Kammpassagen noch wirksam zeigen wird.

Außerdem haben wir inzwischen Gelegenheit gehabt, einige weitere Fälle von

Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken zu untersuchen[1]). Die Einzelheiten dieser Fälle, soweit sie von Interesse sind, seien in folgendem mitgeteilt.

1. Ende August 1908 wurden der bakteriologischen Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes von Herrn Tierarzt Dr. Anders aus Labischin in Posen 15 etwa 6—8 Wochen alte Hühnchen zugesandt. Sie stammten aus dem Geflügelhofe eines Rittergutes, wo seit längerer Zeit „Geflügeldiphtherie" herrschte. Wie uns gelegentlich einer zweiten Einsendung kranker Hühner aus dem gleichen Gehöft mitgeteilt wurde, waren die direkten Verluste und die infolge der mangelhaften Legetätigkeit der Hühner erlittene Einbuße so erheblich, daß sich der Besitzer veranlaßt sah, die Geflügelzucht vollständig aufzugeben.

Nur zwei unter den zuerst eingesandten jungen Hühnern zeigten anfänglich ganz unbedeutende örtliche Krankheitserscheinungen, die in einer leichten Konjunktivitis und Sekretion aus den Nasenhöhlen, sowie punktförmigen weißlichen Belägen auf der Gaumenschleimhaut bestanden. Alle Hühner dagegen wiesen eine ihrem Alter schlecht entsprechende Gesamtentwicklung und einen schlechten Ernährungszustand auf. Im Laufe der Beobachtung traten diese allgemeinen Erscheinungen immer deutlicher hervor, und im Laufe von 14 Tagen erlagen sämtliche Hühner der Krankheit, ohne daß örtliche Krankheitszeichen einigermaßen regelmäßig zum Vorschein gekommen waren. Der Verlauf der Krankheit in dem Gehöft war nach einer Mitteilung, die Herrn Dr. Anders zu verdanken ist, bei den einzelnen Hühnern verschieden. Das betreffende Schreiben sagt darüber folgendes: „Bei einem Teile konnte zu Beginn der Krankheit sofort die Diagnose Diphtherie gestellt werden, andere Hühner magerten allmählich gänzlich ab, und erst bei ziemlich vorgeschrittener Abmagerung konnte man eine kruppös-diphtherische Entzündung der Maul- und Rachenhöhle feststellen. Auch wechselten die Erscheinungen mit kruppös-diphtherischen Entzündungen der Augen mit solchen des Kehlkopfes, der Luftröhre und Nasenhöhle ab. Pocken habe ich vereinzelt gesehen. Lieblingssitz waren Ohrlappen, Umgebung des äußeren Gehörganges, Umgebung der Augenlidränder und Lider, Maulwinkel und Schnabelwurzel um die Nasenöffnungen."

Bei den hier beobachteten 15 jungen Hühnern aus dieser Epitzootie sind Pocken niemals vorhanden gewesen. Auch die diphtherischen Erscheinungen im Halse sind, wie erwähnt, niemals stärker als in Form vereinzelter, höchstens dem Durchmesser einer Erbse entsprechender, weißer, leicht abziehbarer Beläge aufgetreten, die man sehr leicht hätte übersehen können. Deutlicher waren bei den sterbenden Hühnern katarrhalische Erscheinungen der Augenbindehäute und der Nase vorhanden. Beherrscht wurde das Krankheitsbild jedenfalls hauptsächlich durch die Allgemeinerscheinungen.

Am 4. 9. 1908 wurde ein Versuchshuhn mit Rachenbelag am Kamm geimpft.

Am 12. 9. 1908 wurde ein weiteres Huhn mit Sekret der Augenbindehaut am Kamm geimpft.

Am 14. 9. wurde ein drittes Huhn mit Rachenbelag eines verendeten Hühnchens am Kamm geimpft.

In allen drei Fällen erschienen innerhalb 14 Tagen im Verlauf der Impfstriche vereinzelte Epitheliome, die nach weiteren 14 Tagen verschorften und ohne Narbenbildung abheilten. Teilweise wurden diese Epitheliome mit Hilfe eines scharfen Löffels abgekratzt und in einem Mörser mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer homogenen Lymphe verrieben. In dieser Form wird das Virus hier aufbewahrt und von Zeit zu Zeit durch Verimpfung auf den Kamm eines Huhnes virulent erhalten. Mittels solcher Lymphe gelingt es, auf dem Kamm Pocken und auf der Mundschleimhaut Diphtherie zu erzeugen.

---

[1]) Das Material für diese Untersuchungen wurde dem Kaiserl. Gesundheitsamte in dankenswerter Weise von Herrn Geheimrat Frosch in Berlin, von Herrn Geheimrat Dammann in Hannover, von Herrn Oberstabsarzt Slawyk in Lichterfelde und von Herrn Tierarzt Dr. Anders in Labischin a. Netze zur Verfügung gestellt.

2. Ende Dezember 1908 erhielten wir aus dem gleichen, oben genannten Hühnerhof 6 erwachsene Hühner, von denen eins diphtherische Beläge im Halse aufwies. Bei den übrigen 5 Hühnern wurden auch im Verlauf der weiteren Beobachtung örtliche Krankheitserscheinungen niemals beobachtet, insonderheit sind bei allen 6 Hühnern nirgends Epitheliome zum Vorschein gekommen.

Wiederum ergab die Überimpfung von Rachenbelag des erwähnten kranken Huhnes auf den skarifizierten Kamm eines Versuchshuhnes im Verlauf der Impfstriche Epitheliome, während die Verimpfung auf die Mundschleimhaut eines zweiten Versuchshuhnes Diphtherie hervorrief. Bei beiden Versuchshühnern heilte der Krankheitsprozeß ab.

3. Anfangs September 1908 brach in dem Bestand von etwa 50 italienischen Legehühnern eines Siechenhauses in Groß-Lichterfelde eine Seuche aus, die den größeren Teil des Bestandes hinwegraffte. Ein anderer Teil der Hühner wurde getötet und der Rest von etwa 20 kranken Hühnern wurde uns zu Versuchszwecken überlassen. Es handelte sich bei den Tieren um einen pockenähnlichen Ausschlag, der sich über die ganze Oberhaut erstreckte. Während die Anfangsstadien sich als typische, warzenähnliche Epitheliome präsentierten, wie man besonders deutlich auf dem Kamm beobachten konnte, hatten die späteren Stadien mehr das Aussehen eines mit dicken blutigen Schorfen bedeckten Ausschlages. In den meisten Fällen waren daneben schwere diphtherische Erscheinungen in der Mundhöhle vorhanden, die gelegentlich auch an den Konjunktiven nachzuweisen waren. Nicht selten bestand auch eine Sekretion aus der Nase. Der Charakter der Epidemie war im ganzen sehr akut und bösartig, und nur in einem geringen Prozentsatz der Fälle trat Heilung ein. Nach den klinischen Krankheitszeichen handelte es sich mithin um eine Pockenepidemie mit Beteiligung der Schleimhäute.

Am 10. 9. 1908 wurde ein Versuchshuhn mit Rachenmaterial auf den Kamm, ein zweites mit Kammaterial auf den Rachen und ein drittes mit Kammaterial auf die gerupfte Brusthaut geimpft. Am 13. 9. erschienen bei dem ersten Huhn bereits deutliche Pocken auf dem Kamm und bei dem zweiten Beläge an den Impfstellen im Rachen. Bei dem dritten Huhn waren 10 Tage nach der Impfung die Federfollikel deutlich geschwollen und bedeckten sich später mit blutigen, teilweise ineinander übergehenden Schorfen, unter denen Abheilung erfolgte.

Am 23. 11. wurde ein Huhn mit Pockenmaterial von der Brusthaut gleichzeitig auf Kamm, Brusthaut und Mundschleimhaut geimpft. Am 30. 11. war der Erfolg der Impfung am Kamm und im Maul deutlich, am 3. 12. auch auf der Brust; das Huhn ging am 7. 12. unter den erwähnten Erscheinungen zugrunde.

Auch dieses Virus wird in Form von Lymphe seither bei uns weiter gezüchtet.

4. Dieser Fall wurde dem Kaiserlichen Gesundheitsamte aus Hannover (Geheimrat Dammann) zugesandt. Es handelte sich um ein erwachsenes lebendes Huhn, das am Kamm und am linken Kehllappen je ein Epitheliom aufwies. Auf den Schleimhäuten des Kopfes waren keinerlei diphtherische Erscheinungen vorhanden, die Krankheit war mithin klinisch als reines Epitheliom anzusprechen. Auffällig war bei dem Huhn die hochgradige Abmagerung, die zu den geringen örtlichen Erscheinungen in einem gewissen Gegensatz stand. Die Brustmuskulatur war z. B. vollständig geschwunden, und das Tier ging auch einige Tage nach der Abnahme des Materials unter Erscheinungen des Kräfteverfalls ein. Leider haben wir keine Kenntnis darüber, ob dieser Fall aus einer Massenerkrankung stammt oder vereinzelt aufgetreten ist.

Am 28. 10. 1908 wurde ein Versuchshuhn mit dem von den beiden Pocken abgekratzten und mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer Lymphe verriebenen Material mit Hilfe einer Pravazspritze in die Schleimhaut des Mundes geimpft.

Am 1. 11. wurde ein weiteres Huhn auf den skarifizierten Kamm geimpft.

Im ersten Falle war am 8. 11. eine typische Diphtherie vorhanden, der das Huhn am 14. 11. erlag. Im zweiten Falle waren am 6. 11. am Kamm deutliche Epitheliome entwickelt, die am 24. 11. mittels scharfen Löffels abgekratzt und sodann aufbewahrt wurden. Auch dieses Huhn ging später zugrunde. Das Virus wird seit der Zeit ebenfalls fortgezüchtet.

5. Auch in diesem Falle ist nicht bekannt geworden, ob es sich nur um einen Einzelfall handelte. Das Huhn war bereits tot, als es aus Hannover übersandt wurde. Es zeigte lediglich Erscheinungen hochgradiger Diphtherie im Mund und Rachen, ohne irgend welche Beteiligung der Augenbindehäute, ferner ohne Epitheliome am Kamm oder sonst an der Körperoberfläche. Die klinische Diagnose war also hier auf reine Diphtherie zu stellen.

Am 25. 11. 1908 wurden von einer aus den abgelösten Membranen hergestellten Lymphe einem Versuchshuhn einige Tropfen in die skarifizierten Augenbindehäute eingeträufelt. Am 9. 12. waren auf beiden Augen die Bindehäute stark entzündet und ödematös geschwollen. Starke Sekretion. Ganz unwillkürlich drängte sich dem Beobachter die Ähnlichkeit mit dem akuten Stadium des Trachoms auf. Im weiteren Verlauf stellte sich auch eine Entzündung des Bulbus (parenchymatöse Trübung der Hornhaut, Iritis und Skleritis) ein. Indes kam der Prozeß schließlich zur Heilung, und zwar trat auch in diesem Stadium die Ähnlichkeit des Krankheitsbildes mit dem chronischen Stadium des Trachoms in der Narbenbildung und dem dadurch hervorgerufenen Ektropium wieder in die Erscheinung. Das Huhn ist inzwischen aus nicht genau festgestellten Gründen eingegangen.

Ein zweites Versuchshuhn wurde am gleichen Tage wie das erste am Mundboden und am Gaumen geimpft und hatte am 9. 12. typische diphtherische Erscheinungen im Halse. Im Laufe des Dezember heilten diese ab. Bei einer am 10. 2. 1909 vorgenommenen Kammimpfung mit dem unter 3 erwähnten Pockenmaterial erwies sich dieses Huhn übrigens als vollkommen immun.

Ein drittes Huhn wurde mit dem Diphtheriematerial am Kamm und an der gerupften Brusthaut geimpft. Am 8. 12. waren die Epitheliome am Kamm bereits gut entwickelt, während die Impfung auf die Brusthaut negativ blieb. Das betreffende Virus wird ebenfalls hier virulent erhalten.

6. Schließlich verfügen wir noch über Untersuchungen mit einem Virus, das ursprünglich von einer Pockenerkrankung bei einem Rebhuhn herrührt. Das ursprüngliche Pockenmaterial wurde im Hygienischen Institut der tierärztlichen Hochschule in Berlin mit Erfolg auf den Kamm eines Haushuhnes übergeimpft, und von dieser Abimpfung wurden uns von Herrn Geheimrat Frosch einige Partikelchen in trockenem Zustande zur Verfügung gestellt. Wie Herr Geheimrat Frosch mitgeteilt hat, sind bei dem Rebhuhn von dem einsendenden Tierarzt diphtherische Erscheinungen nicht beobachtet worden.

Durch Verreiben des angetrockneten Materials mit physiologischer Kochsalzlösung wurde eine Lymphe hergestellt, mittels der ein Versuchshuhn auf dem skarifizierten Kamm und ein zweites auf der Rachenschleimhaut infiziert wurde. In beiden Fällen war der Erfolg der Impfung positiv, indem am Kamm Epitheliome und im Maul diphtherische Beläge erzeugt wurden.

Alles in allem erstreckten sich mithin unsere Beobachtungen auf zwei größere Epizootien von Hühnerdiphtherie, nämlich auf diejenige in der bakteriologischen Abteilung in Lichterfelde (von Carnwath beschrieben) und auf diejenige auf dem Ritter-

gut Labischin, sowie auf einen Einzelfall von Hühnerdiphtherie, der aus Hannover stammt. In diesen drei Fällen verlief der Krankheitsprozeß ausschließlich unter diphtherischen Erscheinungen. Ferner haben wir untersucht zwei verschiedene Formen von Hühnerpocken, wovon die eine als schwere, ziemlich akut verlaufende Epizootie mit Beteiligung der Kopfschleimhäute und der befiederten Körperbedeckung auftrat (Siechenhaus in Gr. Lichterfelde), während die andere (Hannover) einen sporadischen Fall darstellt, bei dem nur Kamm und Kehllappen, aber weder die übrige Oberflächenhaut noch die Schleimhäute befallen waren. Dazu kommt sechstens eine Pockenerkrankung beim Rebhuhn, die auf Hühner übertragbar war und dort auf der Mundschleimhaut diphtherische, auf dem Kamm epitheliomatöse Erscheinungen hervorrief.

In sämtlichen Fällen gelang es, durch Verimpfung von Pockenmaterial vom Kamm oder von der Haut auf die skarifizierte Mundschleimhaut diphtherische Beläge und durch Verimpfung von Diphtheriematerial auf den skarifizierten Kamm Impfepitheliome zu erzeugen. Damit ist also der Beweis erbracht, daß ein Virus, das auf dem Kamm Pocken hervorruft, auf der Schleimhaut das Krankheitsbild der Diphtherie erzeugen kann, und daß umgekehrt ein Virus, das im diphtherischen Material vorhanden ist, auf der Haut kontagiöse Epitheliome zu erzeugen imstande ist. Beides ist auch dann der Fall, wenn das Ausgangsmaterial von einem Fall herrührt, in dem nur Epitheliom oder in dem nur Diphtherie nachzuweisen war.

Der von Fally gemachte Einwand, daß die Möglichkeit der Übertragung von diphtherischen Belägen auf den Kamm auf einer Mischinfektion zwischen Diphtherievirus und Pockenvirus im Ausgangsmaterial beruht, ist damit wohl als widerlegt anzusehen. Man muß vielmehr den Schluß ziehen, daß in verschiedenen Gegenden Deutschlands eine Seuche bei Hühnern vorkommt, die klinisch als reine Diphtherie auftritt und dabei auf einem Virus beruht, das auf dem Kamm das Bild des kontagiösen Epithelioms hervorruft.

Nun ist von Fally ferner darauf hingewiesen worden, daß zwischen dem kontagiösen Epitheliom und der Diphtherie der Hühner insofern ein bemerkenswerter Unterschied besteht, als die erste Krankheit von Hühnern auf Tauben übertragen werden kann, während das bei der echten Diphtherie nicht der Fall ist. In der Tat ist auch Carnwath seinerzeit eine derartige Übertragung mit seinem ursprünglich von diphtherischen Erkrankungen stammenden Material nicht gelungen. Indes kann dieser Umstand unseres Erachtens als Beweis für die Artverschiedenheit beider Krankheiten nicht in Betracht kommen, da auch die Überimpfung von zweifellosen kontagiösen Epitheliomen von Hühnern auf Tauben nicht immer gelingt. Das geht sowohl aus Beobachtungen von Bollinger (18), sowie von Marx und Sticker (19) bereits hervor. In den Beobachtungen der beiden letztgenannten Autoren über Mitigation des Taubenpockenvirus durch Hühnerpassage (19a) findet man auch eine verständliche Erklärung dafür. Danach verhält sich nämlich die Taube gegen die Infektion mit dem Virus des kontagiösen Epithelioms erheblich refraktärer als das Huhn, indem

wohl die Überimpfung von Tauben auf Hühner der Regel nach möglich ist, aber nicht mehr die Rückimpfung vom Huhn auf die Taube. Gleichwohl muß man das Virus der Taubenpocken und das der Hühnerpocken zurzeit für identisch halten, wenigstens hat Juliusberg (20) die Filtrierbarkeit dieses Virus, die von Marx und Sticker für Hühnerpocken festgestellt ist, auch für das kontagiöse Epitheliom der Tauben nachgewiesen.

Uns selbst ist in neuerdings angestellten Versuchen die Überimpfung auf Tauben weder mit Material, das von einer reinen Hühnerdiphtherie stammte, noch mit solchem, das von reiner Hühnerpocke stammte, noch endlich mit Lymphe, die von Fällen herrührte, bei denen gleichzeitig diphtherische Beläge auf der Rachenschleimhaut und epitheliomatöse Veränderungen auf der Haut vorhanden waren, mit Regelmäßigkeit gelungen. Ebensowenig aber, wie man solche Ergebnisse als Beweis für die Verschiedenheit der Hühner- und Taubenpocke ansehen kann, ist das auch bezüglich der Verschiedenheit von Hühnerpocke und Hühnerdiphtherie möglich.

Das gleiche gilt unseres Erachtens auch für einen weiteren Umstand, den Fally als Beweis für die verschiedene Ätiologie der Hühnerdiphtherie und Hüherpocke ins Feld führt. Während es nämlich Löwenthal (10) und Burnet (11) gelungen ist, durch intravenöse Einspritzung von Virus auf der Haut Pocken zu erzeugen, ist das bei dem gleichen Verfahren Bordet und Fally mittels des von ihnen benutzten Diphtheriematerials nicht gelungen.

Nun ersieht man bereits aus der Schilderung der von uns beobachteten Fälle, daß das Krankheitsbild an und für sich, sowohl was die diphtherischen Erscheinungen anlangt, als auch in bezug auf die Epitheliome mancherlei Schwankungen unterliegt. Insonderheit ist die Haut entweder gar nicht mit beteiligt oder nur die unbefiederten Partien, in anderen Fällen wiederum die ganze Körperoberfläche. Auch experimentell ergeben sich in dieser Beziehung gewisse Unterschiede bei den verschiedenen Virus. Gewöhnlich haftet bei kutaner Übertragung das Virus nur auf den unbefiederten Stellen der Haut, insonderheit auf dem Kamm, während wir nur mit einem einzigen Virus, dem unter (3) beschriebenen, das auch spontan zum Unterschied von den übrigen auf der befiederten Haut Pocken verursachte und sich durch einen besonders bösartigen Verlauf auszeichnete, auf der gerupften Brusthaut Impferfolge gehabt haben. Die einheitliche Ätiologie der kontagiösen Epitheliome, die nur auf der unbefiederten Haut auftreten, und der über die ganze Körperoberfläche verbreiteten wird dadurch keinesfalls in Frage gestellt; offenbar kommen hier lediglich Unterschiede in der Virulenz der einzelnen Virus zum Ausdruck: die wenig virulenten haften nur auf den Schleimhäuten und auf den unbefiederten Stellen der Körperhaut, während auf dem befiederten Teil der Haut nur mit sehr virulentem Virus Impferfolge erzielt werden.

Die experimentelle Erzeugung von Pocken auf der äußeren Haut durch intravenöse Infektion ist uns mit den verschiedenen zur Verfügung stehenden Virus bisher nicht gelungen, weder mit typischem Diphtherie- noch mit typischem Pockenmaterial, selbst nicht mit dem Pockenmaterial (Nr. 3), das bei der Einreibung in die Brusthaut und

auch im spontanen Verlauf der Krankheit Pocken auf der ganzen Körperoberfläche erzeugte. Wohl aber entstanden nach intravenöser Einverleibung, und zwar sowohl von Pockenmaterial als auch von Diphtheriematerial bei unseren Versuchen ziemlich regelmäßig schwere diphtherische Erscheinungen auf der Schleimhaut des Mundes und auf den Augenbindehäuten, welche letzteren unter Umständen zu Panophthalmien führten. Unter den begleitenden Allgemeinerscheinungen trat dann gewöhnlich der Tod dieser Versuchstiere ein.

Es geht mithin aus diesen Versuchen hervor, daß man auch mit einem zweifellosen Pockenvirus nicht unter allen Umständen durch intravenöse Anwendung Pocken auf der äußeren Haut erzeugen kann; folglich läßt sich dieser Umstand für eine Differentialdiagnose zwischen Diphtherie und Pocken nicht heranziehen.

Den von Fally schließlich noch gemachten Einwand, daß die Hühnerdiphtherie eine Krankheit sei, bei der die Erreger ähnlich wie bei der menschlichen Diphtherie nur am Ort der lokalen Affektionen zu finden wären, während beim Epithelioma contagiosum das Virus im Blute kreist (Löwenthal, Burnet), haben wir inzwischen dadurch entkräften können, daß wir auch bei Hühnern, die mit einem von einer reinen Diphtherie herrührenden Material im Maule geimpft waren und diphtherische Beläge bekommen hatten, im Blut, in der Leber und in der Gallenblase ein Virus gefunden haben, das, auf den Kamm von Versuchstieren verimpft, Impfpocken erzeugte. Wir schließen daraus, daß nicht nur das kontagiöse Epitheliom, sondern auch eine gewisse Form der Diphtherie eine Allgemeininfektion darstellt, bei der das Virus im Blute kreist.

Die in klinischer Beziehung so mannigfaltigen von uns beobachteten Krankheitsbilder haben — wenn man die Ergebnisse dieser Untersuchungen zugrunde legt — das eine gemeinsam, daß man ein Virus vorfindet, das bei Verimpfung auf den skarifizierten Kamm übertragbare Epitheliome und bei Verimpfung auf die skarifizierten Schleimhäute übertragbare diphtherische Erscheinungen erzeugt. In beiden Fällen führt die Erkrankung unter Umständen unter lähmungsartigen Allgemeinerscheinungen zum Tode. Die gleichen Allgemeinerscheinungen mit tödlichem Ausgang treten auch bei intravenöser Infektion auf. Bei den gefallenen Hühnern läßt sich durch Verimpfung auf den Kamm im Blut Virus nachweisen. Das Virus ist, gleichviel, ob es von einem Falle reiner unkomplizierter Diphtherie oder von einer reinen Pockenerkrankung herrührt, in 50%igem Glyzerin haltbar und läßt sich, wenn auch nach unseren Erfahrungen nicht regelmäßig, durch Berkefeld-Filter filtrieren. Worauf dieses verschiedene Verhalten bei der Filtration beruht, bedarf noch genauerer Untersuchung (vgl. dazu die positiven Filtrationsversuche von Marx und Sticker und die negativen von Burnet).

Schließlich sei noch ein Versuch angeführt, der ebenfalls für die ätiologische Identität der verschiedenen Krankheitsprozesse spricht. Sowohl die Hühner, die diphtherische Erscheinungen im Maul überstanden haben, als auch die am Kamm geimpften Hühner sind gegen eine neue Infektion mit dem gleichen Material immun, und zwar auch dann, wenn man die Kammhühner im Maul und die Maulhühner am

Kamm nachimpft. Die von Carnwath zuerst gemachte Feststellung haben wir wiederholt zu bestätigen Gelegenheit gehabt und insofern ergänzt, als wir, wie unter Nr. 5 erwähnt, ein Huhn, das mit Material von einem reinen Diphtheriefall im Maul geimpft und von den diphtherischen Erscheinungen genesen war, mit einem zweifellosen, sehr virulenten Pockenvirus am Kamm nachgeimpft haben. Es zeigte sich, daß auch in diesem Fall vollständige Immunität bestand.

Man geht also wohl nicht fehl, wenn man annimmt, daß wir es trotz der verschiedenen klinischen Erscheinungen in allen von uns untersuchten Fällen mit einem gleichen Virus zu tun hatten. Den Einwand, daß in allen Fällen eine Mischinfektion vorgelegen habe, halten wir für sehr unwahrscheinlich und glauben ihn auch durch die oben erwähnten Beobachtungen direkt als widerlegt zurückweisen zu können.

Wir müssen also auf Grund dieser Untersuchungen an der von Carnwath gezogenen Schlußfolgerung festhalten, daß es in Deutschland eine Hühnerdiphtherie gibt, die auf das gleiche Virus zurückzuführen ist, wie das kontagiöse Epitheliom der Hühner.

Für die starke Verbreitung dieser Diphtherieform spricht der Umstand, daß wir ihr Vorhandensein in geographisch ganz getrennten Bezirken, wie Groß-Lichterfelde, Hannover und Labischin (Posen) nachgewiesen haben. Nach unseren Erfahrungen kann auch die wirtschaftliche Bedeutung dieser auf dem Virus der Geflügelpocken beruhenden Seuche keine ganz unerhebliche sein, denn sowohl hier in Lichterfelde als auch in Labischin hat die Krankheit große Verluste hervorgerufen und wegen der Hartnäckigkeit, mit welcher die Krankheitskeime an dem verseuchten Geflügelhof haften, zur völligen Aufgabe der Geflügelzucht Veranlassung gegeben. Wie aus den Beobachtungen an dem von Herrn Geheimrat Frosch überlassenen Material hervorgeht, kommt die gleiche Krankheit außerdem bei Rebhühnern vor, und wahrscheinlich gehören auch viele, wenn nicht alle Fälle von Diphtherie bei Rebhühnern hierher. Eberlein (21) nimmt sogar an, daß die Diphtherieerkrankung bei Rebhühnern immer durch Berührung mit kranken Haustieren entsteht und unter wild lebenden Rebhühern nicht vorkommt. Da nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnis das kontagiöse Epitheliom der Hühner und der Tauben identisch ist (Juliusberg), so kann man annehmen, daß auch gewisse, wenn nicht alle Formen von Taubendiphtherie auf das Virus der Geflügelpocken zurückzuführen sind.

Ganz unberührt durch diese Ergebnisse bleibt die Frage, ob es überhaupt und insbesondere in Deutschland noch eine andere Form der Geflügeldiphtherie gibt, die nicht auf dem Virus der Geflügelpocken beruht, ob diese zweite Form ebenso wie die hier erörterte in Epizootien auftritt und eine ähnliche wirtschaftliche Bedeutung besitzt.

Nachdem die Vermutung, daß der Diphtheriebazillus des Menschen als Erreger einer seuchenhaften Diphtherie beim Geflügel vorkommt, als irrig nachgewiesen und die ätiologische Bedeutung von Flagellaten (Pfeiffer (22)) ebenfalls widerlegt ist (Babes und Puskariu (23), Reischauer (12)), sind als Erreger einer Diphtherie des Geflügels in Deutschland noch folgende Bakterien in Betracht zu ziehen: 1. Der Bacillus diphtheriae (24) columbarum (Löffler 1884), 2. der Nekrosebazillus (25)

(Ritter 1895), 3. der Hühnerdiphtheriebazillus (14) von Reiner Müller (1906), 4. das koliähnliche Bakterium (12) von Hausser (1908). Außerdem sollen auch gewisse Septicämieerreger imstande sein, beim Geflügel diphtherische Erscheinungen hervorzurufen. Dazu gehört 5. das Kokkobakterium von Loir und Ducloux (7) in Tunis (1894), 6. der Bacillus pyocyaneus (9) nach den Untersuchungen von Streit in Canada (1904), 7. das zur Gruppe des Hühnercholerabazillus gehörige Stäbchen (8) von Moore in Nord-Amerika (1895), sowie von Guerin (26) (1903). Schließlich hat Streit noch 8. den Roupbazillus als Erreger einer von ihm in Canada beobachteten Diphtherie angesprochen, und 9. haben Bordet und Fally einen sehr kleinen Mikroorganismus gezüchtet (27), der auf den betreffenden Nährboden als makroskopisch unsichtbarer Belag wächst.

Über die ätiologische Bedeutung des Bacillus diphtheriae columbarum hat sich Löffler selbst seinerzeit sehr vorsichtig ausgesprochen und weitere Untersuchungen als notwendig bezeichnet. Überzeugter sind Babes und Puskariu für seine ätiologische Bedeutung eingetreten. Nach Lehmann und Neumann (28) soll der in Frage stehende Löfflersche Bazillus morphologisch und kulturell mit dem Hogcholerabazillus übereinstimmen. Ob nun aber die Nachuntersucher wirklich alle mit dem gleichen Bazillus zu tun gehabt haben, erscheint nach den verschiedenen Beschreibungen zum mindesten sehr zweifelhaft. Da das Löfflersche Stäbchen sich auch in Organen der gefallenen Tiere finden soll, während andere Untersucher, z. B. Reiner Müller, bei der Hühnerdiphtherie die Organe immer keimfrei gefunden haben, wäre auch die Identität der Hühner- und Taubendiphtherie unter Zugrundelegung der betreffenden Bakterien als ätiologisches Agens in Frage gestellt, eine Identität, die auch neuerdings von anderer Seite (Hausser) wieder betont wird. Daß der Bacillus diphtheriae columbarum, wenn überhaupt, dann nicht der einzige Erreger der Geflügeldiphtherie sein kann, erscheint nach Hausser als bewiesen.

Die ätiologische Bedeutung der übrigen genannten bakteriellen Erreger ist einmal von den betreffenden Autoren selbst nicht überzeugend genug begründet, außerdem aber von Nachuntersuchern zum Teil nicht bestätigt und zum Teil sogar bestritten worden. Größere Wahrscheinlichkeit scheinen unseres Erachtens nur die Untersuchungen von Loir und Ducloux und die von Bordet und Fally für sich zu haben, indes fehlen auch hier noch Nachuntersuchungen, die ihre Befunde über jeden Zweifel sicherstellen.

Was insbesondere den Bordetschen Mikroorganismus anlangt, so bleibt noch festzustellen, ob er nicht mit den von Borrel (29), Burnet und Lipschütz aus Geflügelpocken dargestellten Körperchen identisch ist, was unseres Erachtens wohl im Bereich der Möglichkeit liegt. Die Züchtungsversuche, die mit unseren verschiedenen Virus auf dem von Bordet und Gengou (30) angegebenen Nährboden hier angestellt worden sind, haben bisher keine positiven Erfolge gehabt. Das gleiche scheint bei Lipschütz der Fall zu sein.

Alles in allem muß man sich wohl auf Grund des vorliegenden Tatsachenmaterials auf den Standpunkt stellen, daß für die Geflügeldiphtherie in Deutschland bisher nur die ätiologische Bedeutung des Geflügelpocken-

virus mit aller Sicherheit erwiesen ist. Dafür sprechen auch die gleichen histologischen Befunde bei der Diphtherie und Geflügelpocken, die im Kaiserl. Gesundheitsamt von Schuberg und Schubotz in unsern Fällen erhoben werden konnten. Die diesbezügliche Arbeit wird demnächst in den „Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte" erscheinen. Mit Carnwath halten wir daher an der Ansicht fest, daß man eine Klärung der Frage, ob noch eine weitere seuchenhafte Geflügeldiphtherie vorkommt, die mit dem Epithelioma contagiosum nichts gemein hat, nur dadurch erreichen kann, daß man das Material solcher Diphtheriefälle auf den Kamm von gesunden Hühnern verimpft, in der Weise, wie wir es getan haben.

Aus den Untersuchungen von Marx und Sticker, Burnet und Lipschütz geht hervor, daß das Virus des Epithelioma contagiosum eine weit größere Widerstandsfähigkeit gegenüber den Schädlichkeiten der Außenwelt besitzt, als die bisher als Erreger angesprochenen Bakterien. Diese Tatsache läßt eine Klärung der Frage auch vom Standpunkte der Tierseuchenbekämpfung als notwendig bezeichnen.

Groß-Lichterfelde, im Juli 1909.

Nachtrag.

1. Was die Literatur über unseren Gegenstand anlangt, so sind uns nachträglich durch die Liebenswürdigkeit des Autors zwei amerikanische Arbeiten zugänglich gemacht worden, die Studien über die Beziehungen zwischen den diphtherischen und epitheliomatösen Erscheinungen bei Hühnern in Kalifornien enthalten. In der ersten[1]) sagt der Verfasser, Archibald R. Ward, das klinische Bild spräche sehr dafür, „that these tumors (chickenpox) are related in etiology to the roup". Bei der späteren experimentellen Bearbeitung der Frage[2]) ergab sich, daß bei der Überimpfung von diphtherischem Material auf die Haut von Hühnern in 15 Fällen einmal das Bild des Epithelioma contagiosum erzeugt wurde. Bei vier von den so geimpften Hühnern entwickelte sich ein als Roup anzusprechendes Schleimhautexsudat. Die Übertragung von diphtherischem Material auf die Gaumenschleimhaut gesunder Hühner gelang unter vier Fällen einmal. Der Verfasser schließt aus diesen Ergebnissen allerdings, daß das Virus der Geflügelpocken bisweilen zu Veränderungen führt, die als „Roup" bekannt sind. Der Autor meint ferner, daß seine Ergebnisse mit der Trennung der Hühnerdiphtherie in eine bakterielle und eine gregarinöse Form (Friedberger und Fröhner) vereinbar sind. Unserer Ansicht nach sind diese Schlüsse nicht zutreffend, die Versuche beweisen vielmehr ebenso wie die unsrigen, daß man mit dem Krankheitsmaterial einer reinen Hühnerdiphtherie bei Hühnern Pocken erzeugen kann. Daß dies dem Autor nur einmal gelungen ist, könnte leicht mit der Impftechnik in Zusammenhang zu bringen sein, auf die es nach unseren Erfahrungen wesentlich ankommt. — Es sei ferner bemerkt, daß unsere Untersuchungen inzwischen

[1]) Ward, Arch. R., University of California publications. From annual report of the experiment. Station 1903/04.

[2]) Proc. of the americ. vet. med. assoc. 1905.

durch eine unter Zwicks Leitung von Schmidt ausgeführte Arbeit bestätigt worden sind (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 52, Heft 2). In der Diskussion zu unserm auf der Freien Vereinigung für Mikrobiologie gehaltenen Vortrage hat Zwick bereits über die Befunde von Schmidt kurz berichtet (s. Zentralbl. f. Bakt. Beil. zu Abt. I, Bd. 44, Referate).

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 1. u. 2: Epithelioma contagiosum der Taube (Lipschütz) (künstliche Übertragung).

Fig. 3.

Fig. 3: Übertragung des Taubenepithelioms auf den Kamm und die Kehllappen eines Huhnes.

2. Aus den nebenstehend reproduzierten Photogrammen läßt sich ersehen, daß man das Virus der Taubenpocken (Brusthaut) (Fig. 1 u. 2) ebenfalls auf den Kamm von Hühnern übertragen und beim Huhn damit zweifellos Epithelioma erzeugen kann (Fig. 3).

Auch die weitere Übertragung gelingt mit dem Krankheitsmaterial von diesem Huhn aus auf gesunde Hühner. Das Taubenpockenvirus verdanken wir Herrn Dr. Lipschütz in Wien, dem die Übertragung dieses Virus von der Taube auf das Huhn bisher nicht gelungen war, wie er in der Diskussion gelegentlich der diesjährigen Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Wien (1909) mitteilte. Das bei den Hühnern erzeugte Krankheitsbild ist zwar absolut typisch, aber doch sehr leicht und heilt nach 4—5 Tagen des Bestehens ab, ohne die sonst beobachteten tiefgreifenden saftigen Pusteln zu veranlassen, die viel langsamer verschorfen und abtrocknen. Bisher ist es auch nicht gelungen, durch Passage von Huhn zu Huhn eine Virulenzsteigerung bei diesem Virus Hühnern gegenüber hervorzurufen.

Da man indes mit Hilfe des Virus bei Hühnern auf der Mundschleimhaut diphtherische Veränderungen und bei Tauben eine schwere Diphtherie im Halse erzeugen kann, sehen wir darin einen weiteren Beweis dafür, daß Tauben- und Hühnerpocken bezw. die auf der gleichen Ursache beruhende diphtherische Erkrankung identisch sind, wenn auch die Überimpfung von der Taube auf das Huhn anderen Autoren nicht regelmäßig gelungen ist. Neuere Versuche, Hühnerpocken auf Tauben zu übertragen, die wir gelegentlich angestellt haben, sind bisher zu einem positiven Ergebnis nicht gediehen.

Literaturverzeichnis.

1. Hutyra und Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere Bd. I. Jena 1905.
2. Friedberger und Fröhner, Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere. 5. Aufl., 2. Bd. Stuttgart 1904.
3. Kitt, Th., Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere. 3. Aufl., 1. Bd. Stuttgart 1905.
4. Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. 2. Aufl., 1898.
5. Schneidemühl, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Berlin 1908.
6. Moore, V. A., The pathology and differential diagnosis of infectious diseases of animals. Ithaca N. Y. 1906.
7. Loir et Ducloux, La diphthérie aviaire en Tunisie. Ann. de l'institut Pasteur. Bd. 8, 1894.
8. Moore, V. A., A preliminary investigation of diphtheria in fowls. Bureau of animal industry. Bulletin 8, 1895.
9. Streit, H., Untersuchungen über die Geflügeldiphtherie. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 46, 1904.
10. Löwenthal, W., Untersuchungen über die sog. Taubenpocke (Epithelioma contagiosum). Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 17.
11. Burnet, Et., L'épithélioma contagieux des oiseaux. Ann. de l'institut Pasteur 1906.
12. Reischauer, Über die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihrer Erreger. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 40, 1906.
13. Lipschütz, B., Untersuchungen über Epithelioma contagiosum der Vögel. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 46, 1908.
13a. Derselbe, Über mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten. (Über Strongyloplasmen.) Zentralbl. f. Bakt. Bd. 48, 1908.
14. Müller, Reiner, Zur Ätiologie der Geflügeldiphtherie. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 41, 1906.

15. Carnwath, Th., Zur Ätiologie der Hühnerdiphtherie und Geflügelpocken. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 27, 1907.

15a. Uhlenhuth, Diskussionsbemerkung zu dem Vortrag von Bordet, s. Bericht über den 14. internat. Hygiene-Kongreß 1907, Bd. 4.

16. Fally, Diphthérie aviaire et épithélioma contagieux. Ann. de méd. vét. Febr. 1908.

17. Hausser, A., Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 48, 1908.

18. Bollinger, Über Epithelioma contagiosum beim Haushuhn und die sog. Pocken des Geflügels. Virchows Archiv 1873.

19. Marx und Sticker, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 50.

19a. Dieselben, Weitere Untersuchungen über Mitigation des Taubenpockenvirus. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 5.

20. Juliusberg, M., Über das Epithelioma contagiosum von Taube und Huhn. Deutsche med. Wochenschr. 1904.

21. Eberlein, Geflügeldiphtherie bei Rebhühnern. Monatshefte für Tierheilkunde 1894.

22. Pfeiffer, L., Flagellatendiphtherie bei Vögeln. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 1888.

23. Babes und Puscariu, Untersuchungen über die Diphtherie der Tauben. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten Bd. 8, 1890.

24. Löffler, Über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. Mitteilungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes Bd. II, 1884.

25. Ritter, J., Tierdiphtherie und ansteckende Halsbräune. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 19, 1895.

26. Guérin, C., Sur la non-identité de la diphthérie humaine et de la diphthérie aviaire. Recueil de méd. vét. 1903, zitiert nach Baumgartens Jahresbericht 1903.

27. Bordet, Le microbe de la diphthérie des poules. Bericht über den 14. intern. Kongreß f. Hygiene 1907, Bd. IV.

28. Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik. München 1899.

29. Borrel, A., Sur les inclusions de l'épithélioma contagiosum des oiseaux. C. rend. soc. biol. 1904.

30. Bordet et Gengou, Le microbe de la coqueluche. Ann. de l'institut. Pasteur 1906.

Beiträge zur Kenntnis der Immunitätserscheinungen bei den sogenannten Geflügelpocken.

Von

Dr. med. Manteufel,

wissenschaftl. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Gelegentlich der Studien über die ätiologischen Beziehungen zwischen der Geflügeldiphtherie und dem kontagiösen Epitheliom des Geflügels (1) wurden auch einige experimentelle Beobachtungen über verschiedene, bereits von anderen Seiten (Burnet (2), Löwenthal (3), Carnwath (4) und Lipschütz (5)) angeschnittene Immunitätsfragen gemacht. Da diese Versuche aus äußeren Gründen nicht vollständig zum Abschluß gebracht werden konnten, mögen die bisher erzielten Ergebnisse hier nur in aller Kürze mitgeteilt werden.

Wenn im folgenden von Virus gesprochen wird, so ist damit eine Lymphe gemeint, die dadurch hergestellt wird, daß man Krankheitsmaterial, das entweder von abgekratzten erweichten Epitheliomen der Haut oder von den für die Krankheit charakteristischen Schleimhautmembranen herrührt, mit physiologischer Kochsalzlösung verreibt.

Die in der Literatur niedergelegten Studien über Immunität bei dieser Krankheit sind teilweise an Tauben und teilweise an Hühnern angestellt worden. Möglicherweise beruhen darauf gewisse Verschiedenheiten, die bei den Ergebnissen dieser Studien zutage getreten sind, da die Tauben anscheinend für das Virus weniger empfänglich sind als die Hühner. Gleichwohl muß man sich auf Grund der bisherigen Untersuchungen wohl auf den Standpunkt stellen, daß das Virus der Hühnerpocken und Taubenpocken identisch ist (Juliusberg (7), Uhlenhuth und Manteufel (1)).

Marx und Sticker (6) haben als erste experimentell den Nachweis geführt, daß Hühner, die einmal eine Erkrankung an kontagiösem Epitheliom überstanden haben, gegen eine zweite Hautinfektion mit dem gleichen Virus immun sind. Diese Immunität ist nicht nur lokaler Natur, wie etwa bei der Vakzination der Kaninchenkornea, sondern erstreckt sich auf die ganze Körperdecke und, wie Carnwath (6) später nachwies, auch auf die Schleimhäute. Carnwath zeigte ferner, daß Hühner, bei denen die erste Infektion auf den Schleimhäuten lokalisiert war, gegen eine nachträgliche Infektion auf der äußeren Haut immun waren, und umgekehrt. Haut- und Schleimhautimmunität entstehen also gleichlaufend miteinander.

Daraus ergab sich nun die Frage, ob man es hier mit einer sog. histogenen Immunität der Haut und Schleimhaut zu tun hat, oder ob die Immunität der Körperdecke auf einer Generalisierung des Virus im Organismus beruht und mithin lediglich als ein Anzeichen der allgemeinen Körperimmunität aufzufassen ist. Der Umstand, daß die pathologisch-anatomischen Veränderungen der inneren Organe an und für sich nicht auffällig genug sind, um eine Generalisierung der Infektion mit Sicherheit zu beweisen, sprach von vornherein zugunsten einer derartigen isolierten Immunität der Haut und Schleimhaut. Die örtlichen Affektionen scheinen auch nicht einmal die ganze Dicke der Haut in Mitleidenschaft zu ziehen, sondern sie spielen sich anscheinend, wie ich Reischauer (8) gegenüber betonen möchte, ausschließlich im Epithel ab, da die Epitheliome auf der Haut im Gegensatz z. B. zur Vakzine und Variola beim Menschen ganz ohne Narbenbildung abheilen. Die experimentellen Untersuchungen indes sprechen übereinstimmend gegen die Annahme einer histogenen Immunität.

Zunächst sei erwähnt, daß Burnet und Löwenthal durch intravenöse Injektion von virulentem Pockenvirus Hautimmunität erzielen konnten, ohne daß die charakteristische Affektion auf der Haut vorangegangen war. Ferner hat Lipschütz bei einem geringen Prozentsatz der Tauben, denen subkutan 1 ccm Virus eingespritzt worden war, ohne daß sie erkrankten, bei einer späteren Infektion auf der Brust Immunität festgestellt. Bei den von mir angestellten Versuchen mit Hühnerpockenvirus ergab sich sogar, daß nicht nur ein Teil, sondern sämtliche intravenös und subkutan vorbehandelten Hühner, auch wenn sie die erste Infektion ohne örtliche Erscheinungen überstanden, gegen eine neue Infektion der Haut oder der Mundschleimhaut immun waren. Durch die übereinstimmenden Beobachtungen von Burnet, Lipschütz und mir ist somit bewiesen, daß man bei Geflügelpocken ebenso wie bei der Vakzine (Kraus und Volk (9), v. Prowazek (10), Knöpfelmacher (11), Nobl (12), Arndt (13)) von der Subkutis aus Hautimmunität erzeugen kann.

Die intravenöse und subkutane Anwendung von wirksamem Virus wurde von den hier in Versuch genommenen Hühnern nicht so reaktionslos vertragen, wie es bei den Versuchen von Burnet und Lipschütz anscheinend der Fall war. Es entstanden danach ziemlich häufig diphtherische Beläge auf der Mund- und Rachenschleimhaut, Entzündungen der Augenbindehäute mit anschließender Panophthalmie und allgemeiner Marasmus, so daß die Tiere zum Skelett abmagerten und eingingen, gelegentlich unter lähmungsartigen Schwächezuständen. Diese Allgemeinerscheinungen wurden auch bei natürlich infizierten Hühnern wiederholt beobachtet und traten gelegentlich so sehr in den Vordergrund, daß sie zu den geringen örtlichen Erscheinungen in einem gewissen Gegensatz standen. Da man durch die vorliegenden Untersuchungen weiß, daß das Virus der Geflügelpocken auch im Körperkreislauf vorhanden ist (Burnet, Löwenthal, Uhlenhuth und Manteufel), geht man wohl nicht fehl, wenn man die marastischen Erscheinungen als Allgemeinwirkung des Geflügelpockenvirus anspricht. Bei dem natürlichen Krankheitsverlauf treten sie gewöhnlich hinter den örtlichen Erscheinungen zurück, aber gelegentlich, und namentlich bei jungen

Hühnern, kommen sie frühzeitiger zum Ausdruck als diese und sind dann als eigentliche Todesursache anzusehen (Uhlenhuth und Manteufel).

Spritzt man nun Hühnern, die eine experimentelle Haut- oder Schleimhautinfektion mit Geflügelpockenvirus überstanden haben, subkutan oder intravenös wirksames Virus ein, so bleiben die bei der subkutanen Injektion unbehandelter Hühner beobachteten örtlichen und allgemeinen Krankheitserscheinungen anscheinend regelmäßig aus: die betreffenden Hühner sind also durch Überstehen der Epithelinfektion auch gegen die Allgemeinerscheinungen immunisiert worden. Somit besteht also für die Geflügelpocken der Satz zu Recht, daß Hautimmunität und Körperimmunität sich gegenseitig bedingen, d. h. daß die Hautimmunität nicht histogener Natur, sondern ein Symptom der allgemeinen Körperimmunität ist. Das ist in diesem Falle auch leicht verständlich, da man, wie erwähnt, das Virus im Kreislauf leicht nachweisen kann. Anders liegen bekanntlich die Verhältnisse bei der Vakzination, wo die Erfahrung, daß eine kleine Vakzinepustel Immunität der gesamten Körperdecke bedingt, in auffälligem Gegensatz dazu steht, daß man eine Generalisation des Vakzinevirus noch nicht sicher nachgewiesen hat (v. Prowazek (14), Nobe (15)).

Die Immunität der Hühner, deren Dauer von Lipschütz nach 6 Monaten noch nachgewiesen worden ist, besteht nach den hier ausgeführten Wiederimpfungen noch unvermindert anderthalb bis zwei Jahre nach dem Überstehen der Krankheit oder nach der experimentellen Infektion der Haut oder der Schleimhaut. Die Impfung am Kamm wird am besten folgendermaßen ausgeführt: Man skarifiziert ihn unter tunlichster Vermeidung von Blutungen durch reihenförmig angelegte Impfstriche, wartet unter Umständen eine gewisse Zeit, bis kleine Blutungen gestillt sind, und reibt dann die Lymphe mittels eines Wattebausches in den Kamm ein. Bei empfänglichen Hühnern, die zum ersten Mal auf diese Weise infiziert werden, zeigt sich je nach der Stärke des Virus die erfolgreiche Infektion nach 4—5—8 Tagen daran, daß entlang den bis dahin glatten Impfstrichen die Wundränder anschwellen und im Laufe der nächsten Tage unter zunehmender Schwellung kleine Knötchen erkennen lassen, die später zusammenfließen und sich in ein gelblich weißes, überaus saftiges Gewebe verwandeln, das beim Abkratzen mit dem scharfen Löffel eine stark blutende, unebene Geschwürfläche erkennen läßt. Unter diesen Blutschorfen heilt die Affektion später ab. Entfernt man die Pockenmasse nicht, so bildet sich ebenfalls aus den erweichten Massen ein von Blutungen durchtränkter Schorf, der allmählich trocknet und beim Abfallen eine glatte narbenlose Haut zurückläßt.

Bei den immunen Hühnern tritt nun entweder an den Impfstrichen gar keine Reaktion ein, oder man beobachtet folgende Erscheinung. Bereits am zweiten oder dritten Tage, jedenfalls aber eher als bei den mit gleichem Material geimpften gesunden Hühnern, macht sich an den Impfstrichen die oben erwähnte Schwellung der Ränder bemerkbar; im Laufe der nächsten beiden Tage geht sie aber wieder zurück und ist gewöhnlich bereits verschwunden, wenn der Erfolg der Impfung bei den Kontrollhühnern deutlich sich zu zeigen beginnt. Ähnliche Beobachtungen scheint auch Löwenthal gemacht zu haben. Es handelt sich wohl hier um die gleiche

Erscheinung wie bei der „vakzinalen Frühreaktion“, d. h. um eine anaphylaktische Erscheinung. Die von Lipschütz erwähnte Beobachtung, daß bei einer neuen Infektion vor dem Eintritt der vollen Immunität (etwa innerhalb 14 Tage nach der ersten Infektion) die typischen Knötchen an der Impfstelle nur vereinzelt auftreten, scheint mir mit den Ausdruck „Frühreaktion“, den er dabei gebraucht, nicht richtig gekennzeichnet zu sein. Ich glaube, daß es sich unter diesen Verhältnissen nur um einen Ausdruck der noch unvollkommenen Immunität handelt, da eine volle Immunität erst in der dritten Woche einzutreten pflegt.

Über die eigentliche Ursache, die zu dem Auftreten dieser ungewöhnlich früh erscheinenden und ebenso rasch verschwindenden Impfreaktion führte, habe ich keine Klarheit gewinnen können. Die betreffenden Hühner waren vor langer Zeit und zwar vor mehr als einem Jahre zum ersten Mal geimpft worden und bei der Impfung noch immun. Eine diagnostische Bedeutung könnte man in diesem Fall der Erscheinung nur bei positivem Ausfalle zuerkennen, da ein mindestens ebenso großer Teil der bereits einmal infizierten und noch immunen Hühner die Reaktion nicht zeigte. Ob sich durch das Auftreten dieser Frühreaktion vielleicht eine abklingende, nicht mehr ganz vollständige Immunität kennzeichnete, wie in den Versuchen von Lipschütz, wo die Immunität noch nicht ganz ausgebildet, also ebenfalls unvollkommen war, kann ich nicht entscheiden.

Im Hinblick auf die Feststellung, daß die Immunität bei den Geflügelpocken auf eine Generalisierung des Virus zurückzuführen ist, war es von Bedeutung, das Verhalten des Blutserums immuner Hühner zum Virus genauer zu erforschen, in der Hoffnung, dadurch über den bisher unbekannten Mechanismus der Immunität Aufschluß zu bekommen. Um möglichst eindeutige Ergebnisse zu erhalten, wurden für diese Versuche nur Sera von solchen immunen Hühnern benutzt, die nach dem erstmaligen Überstehen einer Hautinfektion des öfteren mit größeren Mengen Pockenvirus subkutan weiter behandelt worden waren. Es wurden zu diesem Zwecke in Abständen von 14 Tagen bis 3 Wochen 2—5 ccm möglichst konzentrierter Aufschwemmung von Lymphe eingespritzt, und 14 Tage nach der letzten Einspritzung wurden die Hühner entblutet.

Mit aller Sicherheit ergab sich dabei zunächst, daß ein derartig hoch getriebenes Immunserum auf eine bestehende Pockeninfektion gar keinen therapeutischen Einfluß ausübt, auch wenn es intravenös in Dosen von 5 ccm mehrmals eingespritzt wird.

Injiziert man ein derartiges Immunserum gesunden Hühnern subkutan und impft sie gleichzeitig am Kamm, so verläuft die Infektion nicht wesentlich anders als bei den Kontrolltieren. Das Immunserum entfaltet also im Tierkörper weder eine Heilwirkung noch eine Schutzwirkung. Burnet hat bei dem letztgenannten Versuch wohl eine geringe Abschwächung des Infektionsverlaufes gesehen, doch hält auch er die Schutzwirkung des Serums für eine sehr schwache.

Was nun die mikrobiziden Eigenschaften dieses Immunserums anlangt, so sind die bisherigen Versuchsergebnisse nicht ganz eindeutig ausgefallen. Läßt man Immunserum unverdünnt 2—3 Tage lang auf konzentrierte Pockenlymphe einwirken und

verimpft die Mischung dann auf den Kamm von Hühnern, so bekommt man ein normal verlaufendes Impfergebnis. Man müßte daraus also, wie Burnet es getan hat, den Schluß ziehen, daß das Immunserum keine mikrobiziden Antikörper enthält. Spritzt man Hühnern eine in obiger Weise vorbereitete Mischung von Immunserem und Virus subkutan ein, so zeigen sich nach meinen Erfahrungen niemals die allgemeinen und örtlichen Krankheitserscheinungen, über die ich oben berichtet habe. Leider ist in den diesbezüglichen Versuchen die Erkrankung der Kontrolltiere, die mit Mischungen von normalem Hühnerserum mit Virus gespritzt waren, nicht so deutlich gewesen, daß einige sichere Schlüsse gezogen werden konnten. Impft man die mit Mischungen von Virus mit Immunserum vorbehandelten Hühner etwa 14 Tage später am Kamm nach, so erweisen sie sich in der Regel nicht als immun, während die bisher darauf geprüften Hühner, die mit Mischungen von normalem Hühnerserum mit Virus subkutan behandelt waren, immun waren. Da, worauf ich später noch zu sprechen kommen werde, bisher eine Immunisierung mit abgetötetem Material weder Burnet noch mir gelungen ist, könnte man aus der Tatsache, daß die kombinierte Vorbehandlung mit Virus und Immunserum einmal keine Erkrankung und später keine Immunität im Gefolge hat, den Schluß ziehen, daß das Immunserum im Tierkörper doch eine Abtötung des Virus zustande bringt, die, wie erwähnt, im Reagenzglas nicht erfolgt. Indes sind darüber doch weitere Versuche abzuwarten, ehe ein endgültiges Urteil über die mikrobiziden Antikörper des Blutserums abgegeben werden kann. Eine erhebliche Bedeutung oder gar eine praktische Verwertung — das kann man aber jetzt schon sagen — dürfte diesen Stoffen kaum zukommen, da sie im Schutz- und Heilversuch, wie erwähnt, eigentlich vollkommen versagen und auch für eine kombinierte Immunisierung nicht geeignet sind.

Es wurde bereits erwähnt, daß Burnet eine aktive Immunisierung durch subkutane Injektion von Virus, das durch Erhitzung abgetötet worden war, nicht gelungen ist. Diese Beobachtung kann ich bestätigen und dahin erweitern, daß man auch mit Virus, das durch Chemikalien abgetötet ist, z. B. durch 5%ige Karbolsäurelösung, nicht immunisieren kann. Bei der Vakzine ist die Frage der Immunisierung mit abgetötetem Virus bekanntlich mit Sicherheit noch nicht entschieden.

Gegen Glyzerin ist das Virus der Geflügelpocken von anscheinend unbegrenzter Widerstandsfähigkeit, und auch bei subkutaner Anwendung erweist es sich als vollkommen virulent, d. h. ebenso wie frisches Virus.

Aus der Reihe der übrigen von mir geprüften Chemikalien scheinen mir in bezug auf Immunitätsstudien nur die Ergebnisse mit Galle bezw. mit Natrium taurocholicum erwähnenswert zu sein, da diese beiden Stoffe durch die Versuche Neufelds und Prowazeks eine gewisse Bedeutung für Untersuchungen mit Mikroorganismen der vorliegenden Art gewonnen haben. v. Prowazek fand z. B., daß das Vakzinevirus durch 6-stündige Einwirkung von Kaninchengalle abgetötet wird. Lipschütz, der solche Versuche später mit dem Taubenpockenvirus anstellte, konnte mit 10%iger Lösung von Natrium taurocholicum nach 2 Stunden eine vollständige Abtötung nur in

einem Falle feststellen, während in den übrigen Fällen nur eine gewisse Schädigung des Virus eingetreten zu sein schien.

Mir selbst ist in zahlreichen Versuchen die Abtötung des Geflügelpockenvirus bei 2 bis 3 Tage langer Einwirkung von frischer Kaninchengalle und von 10%iger Lösung von taurocholsaurem Natrium niemals gelungen. Wenn man die Mischung auf den Kamm von empfänglichen Hühnern verimpft, entstehen immer typische, normal verlaufende Pocken. Daß die Galle keine sehr erhebliche mikrobizide Wirkung auf dieses Virus ausüben kann, geht auch aus der von Uhlenhuth und Manteufel (1) gemachten Beobachtung hervor, daß sich das Virus in der Galle von Hühnern, die experimentell auf den Kamm infiziert worden waren, bei Verimpfung auf den Kamm von Versuchshühnern nachweisen läßt.

Es scheint daher, als ob innerhalb der Gruppe der „Chlamydozoen", zu der das Virus der Geflügelpocken allem Anschein nach gehört, Unterschiede in bezug auf die Resistenz gegen Galle beständen, so daß man also aus dem Verhalten eines solchen Virus gegen Galle oder Natrium taurocholicum keine sicheren Schlüsse auf seine Natur bezw. seine systematische Stellung ziehen dürfte. Es ist ja denkbar, daß sich in dieser Beziehung bei den Protozoen und bei den „Chlamydozoen" ebenso Ausnahmen von der Regel finden, wie sie bei Bakterien bereits bekannt sind.

Der Befund von lebendem Geflügelpockenvirus in der Galle der an der Krankheit verstorbenen Hühner legte den Gedanken nahe, daß solche virushaltige Galle in ähnlicher Weise wie bei der Rinderpest zu einer aktiven Immunisierung geeignet sein könnte. Das hat sich bei den Versuchen indes nur zum Teil als richtig erwiesen. Die Galle der gefallenen Tiere erwies sich zunächst deshalb als wenig geeignet für derartige Versuche, weil sie das Virus nicht regelmäßig enthält. Es ist nicht verwunderlich, daß virusfreie Galle keine Immunität hinterläßt. Versetzt man vom Kamm abgekratztes Pocken-Material, das mit Kochsalzlösung zu einer Lymphe verrieben ist, mit frischer Kaninchengalle und spritzt diese Mischung nach 24stündiger Einwirkung im Reagenzglase Hühnern subkutan ein, so entstehen bei den Tieren, soweit meine Erfahrungen reichen, keinerlei örtliche oder allgemeine Krankheitserscheinungen. Ich habe daher, wie auch Lipschütz, den Eindruck gewonnen, daß die Galle eine Abschwächung des Virus zuwege bringt insofern, als bei kutaner Applikation zwar noch Krankheitserscheinungen auftreten, während sie von der Subcutis aus nicht mehr auszulösen sind. Auch v. Prowazek (4) neigt auf Grund von morphologischen Untersuchungen, die er neuerdings veröffentlicht hat, zu der Ansicht, daß die Galle eine Abschwächung des Geflügelpockenvirus hervorbringt.

Die mit Mischungen von Galle und Virus vorbehandelten Hühner erwiesen sich bei einer späteren Nachimpfung auf den Kamm zum größten Teil immun, ein Beweis, daß man auch hier, ähnlich wie bei den menschlichen Pocken, mit einem abgeschwächten lebenden Virus gegen ein virulentes immunisieren kann. Weniger gute Erfolge, als mit frischer Kaninchengalle, habe ich bei Verwendung von 10%iger Lösung von taurocholsaurem Natrium gesehen, d. h. in diesem Falle erwies sich ein viel geringerer Prozentsatz der Hühner bei der Nach-

impfung als immun. Anderseits wird durch solche Lösungen das Virus häufig so wenig abgeschwächt, daß bei der subkutanen Impfung nicht selten Krankheitserscheinungen gesehen wurden, wie sie bei der subkutanen Einspritzung von frischem Virus aufzutreten pflegen.

Worauf es beruht, daß gelegentlich auch die mit Galle und Virus vorbehandelten Hühner nicht immun sind, bedarf noch genauerer Feststellung. Die Versager lassen es jedenfalls als wünschenswert erscheinen, für die Zwecke einer brauchbaren Immunisierung in der Praxis nach anderen ähnlich wie die Galle wirkenden Mitteln zu suchen.

Die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung mit abgeschwächtem Virus ließ sich auch in einer Reihe von Versuchen nachweisen, bei denen zur Vorbehandlung und Nachimpfung nicht homologe, sondern heterologe Virusstämme verwendet wurden. Bereits von Natur aus waren diese sehr verschieden virulent, was sich zum Teil bereits am Krankheitsverlauf selbst zeigte, zum Teil darin zum Ausdruck kam, daß Hühner, denen das eine frische Virus subkutan eingespritzt war, nicht erkrankten, während bei Verwendung eines anderen schwere Krankheitserscheinungen auftraten. Trotzdem erwiesen sich später auch die mit wenig virulentem Virus vorbehandelten Hühner, die nicht erkrankt waren, bei der Nachimpfung mit hochvirulentem Virus auf den Kamm als vollkommen immun.

Falls sich unter bestimmten Verhältnissen eine Immunisierung gegen Geflügelpocken als notwendig erweisen sollte, was nach meinen Erfahrungen in Geflügelzuchtanstalten wohl eintreten könnte, kommt mithin nach dem Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen weder ein passiver, noch ein kombinierter Impfschutz, noch die aktive Immunisierung mit abgetötetem Virus in Betracht; dagegen verspricht die Schutzimpfung mit abgeschwächtem lebendem Virus ausreichende Erfolge. Das geeignetste Verfahren der Abschwächung müßte indes noch auf dem Wege des Versuchs gefunden werden.

Was den Mechanismus der Immunität anlangt, so kann man vor der Hand eigentlich nur so viel sagen, daß das Blutserum der Immuntiere ähnlich, wie es bei der Vakzine der Fall ist, nicht der eigentliche Träger der Immunität sein dürfte.

Groß-Lichterfelde, Anfang Juli 1909.

Literaturverzeichnis.

1. Uhlenhuth und Manteufel, Neue Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 33, 1909.
2. Burnet, Et., L'épithélioma contagieux des oiseaux. Ann. de l'institut Pasteur 1906.
3. Löwenthal, W., Untersuchungen über die sog. Taubenpocke (Epithelioma contagiosum). Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 17.
4. Carnwath, Th., Zur Ätiologie der Hühnerdiphtherie und Geflügelpocken. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 27, 1907.

5. Lipschütz, B., Untersuchungen über Epithelioma contagiosum der Vögel. Zentralbl. f. Bakter. Bd. 46.

5a. Derselbe, Über mikroskopisch sichtbare filtrierbare Virusarten. (Über Strongyloplasmen.) Zentralbl. f. Bakter. Bd. 48, 1908.

6. Marx und Sticker, Untersuchungen über das Epithelima contagiosum des Geflügels. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 50.

6a. Dieselben, Weitere Untersuchungen über Mitigation des Taubenpockenvirus. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 5.

7. Juliusberg, M., Über das Epithelioma contagiosum von Taube und Huhn. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 43.

8. Reischauer, Über die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger. Zentralbl. f. Bakter. Bd. 40, 1908.

9. Kraus und Volk, Studien über Immunität gegen Variolavaccine. Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien (Math. naturw. Klasse) Bd. 116, Abt. 3, 1902.

10. v. Prowazek, S., Untersuchungen über die Vaccine. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1905, 1906 u. 1907.

11. Knöpfelmacher, W., Subkutane Injektionen von Kuhpockenvaccine. Zeitschr. f. exper. Pathol. und Therap. Bd. 4, 1907.

12. Nobe, Über das Schutzvermögen der subkutanen Vaccineinsertion. Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 32.

13. Arndt, Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine. Zentralbl. f. Bakter. Bd. 47, 1908.

14. v. Prowazek, S., Münch. med. Wochenschr. 1909.

15. Nobe, Beiträge zur Vaccineimmunität. Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 22.

Untersuchungen über die Desinfektion infizierten Düngers durch geeignete Packung.

Von

Dr. med. vet. Hans Bohtz,
kommissar. Kreistierarzt in Tuchel,
früher. wissenschaftl. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Bei der Bekämpfung der seuchenartigen Tierkrankheiten ist von jeher der Behandlung des infizierten Düngers eine wesentliche Bedeutung beigemessen worden. So ordnen das Reichsgesetz, betreffend die Abwehr und Unterdrückung von Viehseuchen vom $\frac{\text{23. Juni 1880}}{\text{1. Mai 1894}}$ und das Rinderpestgesetz vom 7. April 1869 an, daß die Streu, der Dünger und sonstige Sekrete oder Exkrete von seuchekranken oder einer Seuche verdächtigen Tieren unschädlich beseitigt werden müssen. Denn die aus dem infizierten Tierkörper in die Streu abgesonderten pathogenen Keime tragen oft zur Verschleppung von Seuchen bei und bilden somit eine Gefahr für die Landwirtschaft, zumal viele Erreger von Tierseuchen nicht nur in der Stalljauche und im Dünger lebensfähig und virulent bleiben, sondern sich darin sogar vermehren.

So ist es von den Sporen bildenden Bakterien des Milzbrands, des Rauschbrands und des Starrkrampfs bekannt, daß sie im Erdboden, in der schmutzigen Stallstreu, im Dünger und in der Jauche ihre Lebensbedingungen finden, sich darin vermehren und ihre Dauerformen bilden können (Dammann (1), Nocard (2), Kitt (3), Friedberger und Fröhner (4), Kitasato (5)).

Der Bazillus des Schweinerotlaufs gedeiht gut in stagnierenden Gewässern und findet auch im Stalldünger und in der Jauche seine Existenzbedingungen (Löffler (6), Rieck und Schade (7)). Durch Kot, Jauche, Schlachtabfälle und Spülwässer wird der Schweinerotlauf sehr oft in gesunde Bestände übertragen (Schmidt (8)).

Die Erreger der Schweineseuche bleiben in der Außenwelt bis 4 Monate lebensfähig (Joest (9)) und vermehren sich in der Jauche (Rieck und Schade (7)). Nach Nocard (2) hält sich auch der Erreger der Wild- und Rinderseuche im Dünger virulent und es behalten nach Kitt (3), Maschiafava und Celli (10) die Bakterien der Geflügelcholera im Kot selbst 3 Monate ihre Infektiosität. Tuberkelbazillen finden sich im Dünger tuberkulöser Rinder und Schweine (Beißwänger (11), Ostertag (12), Rosenblatt (13)) und können sich monatelang hier lebensfähig erhalten (Möller (14)), Musehold (15)). Auch die Erreger der Kälberruhr, des seuchenhaften Abortus der Stuten und Kühe, sowie des infektiösen Scheidenkatarrhs, werden in den Dünger ausgeschieden (Jensen (16), Nocard (2), Ostertag (12), Köstenbaum (17)), können sich hier erhalten und die betreffenden Seuchen übertragen.

Der Rotzbazillus setzt nach Schütz (18) und Löffler (19) der Fäulnis einen erheblichen Widerstand entgegen, der im Dunkeln bis zu 1 Monat andauern kann; im feuchten Medium bleibt er 14 Tage, selbst bis zu 4 Monaten infektionstüchtig.

Der Ansteckungsstoff der Pferdestaupe gelangt nach Dieckerhoff (20) sicher in den Dünger, daher kann eine Übertragung der Seuche durch letzteren erfolgen.

Von den Erregern der Tollwut, der Rinderpest, der Lungenseuche, der Pockenseuche und der Schweinepest ist ebenfalls bekannt, daß sie von den infizierten Tieren in den Stalldünger abgeschieden werden und sich hier eine Zeitlang voll virulent erhalten können. So widersteht das Tollwutgift nach Friedberger und Fröhner (4) 4—5 Tage der Fäulnis im Düngerhaufen, nach von Ratz (21) sogar 14—24 Tage. Für die Rinderpest ist der Stalldünger der gefürchtetste Zwischenträger, nach Nocard (2) hält sich das Virus mehrere Wochen, nach Dammann (1) sogar $^1/_2$—$^3/_4$ Jahr virulent. Gerlach (22) fand, daß untergepflügter Dünger noch längere Zeit ansteckungsfähig war. Der Erreger der Lungenseuche konserviert sich selbst 3—4 Monate im Dünger (Haubner (23), Spinola (24)). Der Ansteckungsstoff der Maul- und Klauenseuche ist im Stalldung nach Dammann (1) 3 Monate, nach Bermbach (25) selbst 4—5 Monate virulent. Endlich wird das filtrierbare Virus der Schweinepest nach Uhlenhuth, Hübener, Xylander, Bohtz (26) sicher mit dem Harn in den Dünger ausgeschieden.

Aus diesen Tatsachen folgt für die veterinär-polizeiliche Bekämpfung der Tierseuchen als erste Forderung, die im Stalldünger enthaltenen Krankheitserreger mit Sicherheit zu vernichten.

Als Radikaldesinfektion von absoluter Sicherheit ist die Verbrennung des infizierten Düngers anzusehen. Diese Methode kann jedoch nur bei kleinen und verhältnismäßig trocknen Düngermengen Anwendung finden, auch sind einwandsfreie Verbrennungs-Öfen für Dünger bisher nicht bekannt. Außerdem geht im Falle der Verbrennung der Dung für die Landwirtschaft nahezu ganz verloren. Ähnlich verhält es sich bei Vergraben des Seuchendüngers in 1—2 m Tiefe. In Frage können übrigens auch hier nur kleinere Mengen Düngers kommen. Zudem darf bei diesem Verfahren kein Steigen des Grundwassers eintreten, da sonst die zu beseitigenden Mikroben in Kulturschichten mit günstigeren Existenzbedingungen emporgehoben würden und schließlich an die Oberfläche gelangen könnten.

Beim Unterpflügen des Düngers würden zwar der Landwirtschaft keine Düngstoffe verloren gehen, wie beim Verbrennen oder Vergraben; auch wäre diese Methode praktisch im großen anwendbar, jedoch nicht für Seuchendünger, der Bakterien mit resistenten Sporen enthält, wie z. B. Milzbrand oder Rauschbrand. Das Feld, auf dem der Seuchendünger vergraben wird, muß jedenfalls möglichst vom Gehöft abgelegen sein und darf überhaupt einige Zeit nach dem Vergraben des infektiösen Düngers nicht von Tieren betreten werden, da das Infektionsmaterial noch verhältnismäßig lange virulent bleiben und infolgedessen eine Seuchenverschleppung stattfinden kann.

Feuchte Hitze in Form heißen Wasserdampfes wirkt schnell und sicher abtötend, ohne daß der Dünger wesentlich entwertet wird. Jedoch ist dies Verfahren nur anwendbar, wenn die erforderlichen, technischen Einrichtungen vorhanden sind z. B. auf Schlachthöfen und Abdeckereien usw. Ähnliche Gründe sprechen auch für die Benutzung von Ozon- und Formaldehyddämpfen.

Von den chemischen Desinfektionsmitteln kommen in Betracht Säuren, Laugen, Salze, Teere, Kalke und Streuzusätze.

Fast alle müssen zur Erzielung einer keimtötenden Wirkung in hoher Konzentration zugeführt werden; viele haben, was besonders für Schlacht- und Viehhöfe unangenehm ist, einen starken Geruch; noch andere Mittel vernichten neben den tierpathogenen Keimen besonders auch die für die Umsetzung des Düngers und somit für die Landwirtschaft wichtigen und nützlichen Düngerbakterien (Märcker (27),

Stutzer (28)). Einige in höherer Konzentration angewandte Chemikalien schädigen, wenn sie mit dem Dünger dem Boden einverleibt werden, die landwirtschaftlichen Gewächse in ihrer Entwicklung. Dazu kommt noch nach Gärtner (29), daß die Anwendung von chemischen Desinfektionsmitteln immer nur geringe Erfolge haben wird, wenn die Fäkalien nicht dünnflüssig sind oder eine gründliche maschinelle Durchmischung vorgenommen werden kann.

Von allen in Frage kommenden, chemischen Mitteln hält Schmidt (8) bei der Desinfektion des Stalldüngers der Schlacht- und Viehhöfe die Verwendung von frischer Kalkmilch für das zweckmäßigste wegen der leichten und billigen Durchführbarkeit. Auch soll selbst der in Düngerhäusern längere Zeit lagernde Gesamtdünger bei der Durchtränkung mit frischer Kalkmilch keine wesentlichen Verluste an Düngewerten erleiden. Vielmehr ist der Kalkzusatz zum Dünger für eine mürbe und lockere Beschaffenheit der Ackerkrume von Vorteil; es wird ferner die Verrottung des Düngers und die Umsetzung von Ammoniak in Salpeterstickstoff beschleunigt (Gerson, Vogel und Weyl (30), Dietzell, Pfeiffer und Wagner (31)). Von großer Wichtigkeit ist außerdem der Umstand, daß die Denitrifikations-Bakterien durch Kalkzusatz in ihrer den Dünger schädigenden Wirkung vernichtet werden (Dietzell, Pfeiffer, Wagner (31)). Auch Behrens (33) konstatierte die stickstoffkonservierende Kraft des Kalkes.

Schließlich seien noch die mannigfachen Streuzusätze erwähnt, durch welche man anfänglich eine Desinfektion des Düngers im Stall erhoffte. In Betracht kommen einfache oder schwefelsaure Torfstreu, feinkörniger Gips, dessen Ammoniakbildung jedoch nach Stutzer (28), Vogel, Müntz und Girard (34) nicht von Dauer ist. Keine antiseptische Wirkung hat nach Dammann (1) der Kainit, nach Vogel (35) der Superphosphatgips. Die Torfstreu leistet beim Aufsaugen von Jauche in Seuchenstallungen gewiß gute Dienste (Ostertag (12), Nevermann (36)), doch hat auch sie keine wesentliche desinfizierende Wirkung auf die im Dünger enthaltenen pathogenen Keime (Eber (37), Künnemann (38), Rabe (39), Stutzer (40), Löffler (41), Fränkel (42) und Gärtner (43)). Nur bei den Rotlaufbazillen konnte Eber (37) beobachten, daß eine Fortentwicklung im Torfstreudünger unterbleibt.

Eine neuere Errungenschaft in der Desinfektion von Seuchendünger ist das Kompostieren desselben. Galtier (44) hat auf die bakterienzerstörende Tätigkeit der Gärung im Misthaufen hingewiesen und sie bei der Abtötung der Erreger der Tuberkulose, des Schweinerotlaufs und der Maul- und Klauenseuche empfohlen, wenn ihm auch die schnelle Wirkung dieses Verfahrens bei geeigneter Packung des Düngers unbekannt war.

Gärtner (29) hat alsdann zuerst die von der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, Sonderausschuß für Verwertung städtischer Abfallstoffe, aufgestellte Frage eingehender studiert, ob die im Seuchendünger vorhandenen tierpathogenen Keime nicht durch das Kompostierungsverfahren an sich oder durch die hierbei im Mist erzeugte Wärme vernichtet würden. Bei seinen Versuchen über das Absterben von Krankheitserregern im Mist und Kompost ließ Gärtner (29) alle natürlichen desinfizierenden Kräfte des Stallmistes und Kompostes einwirken, und zwar

1. „Die durch die Lagerung des Mistes veränderten chemischen Qualitäten desselben“
2. den Antagonismus zwischen den Bakterien des Mistes und den in ihm befindlichen pathogenen Keimen, und alsdann
3. die Wärmeentwickelung durch die Fäulnis- und thermophilen Bakterien des Düngers.

Gärtner verwandte bei seinen Versuchen im Oktober und November ein Gemenge von Pferde- und Kuhmist, der etwa zu 2 Teilen aus Stroh, zu 1 Teil aus Kot bestand.

Mit diesem Dung wurden zwei Haufen von 2,2 m Länge, 1,5 m Breite und 1 m Höhe errichtet; der eine wurde ganz locker aufgebaut, ohne Erdeindeckung, der andere leicht angetreten und an seiner Oberfläche wie an den Seiten mit 5 cm dicker Erdschicht eingedeckt. Ferner wurde eine auszementierte Grube von 1,5 cbm Inhalt mit Kuh- und Pferdemist angefüllt und festgetreten und außerdem zwei Komposthaufen aus Gartenabfällen, Bauschutt, Mist, Torfstreu und 200 Liter Fäkalien errichtet. In diese Düngerhaufen wurden in verschiedenen Tiefen (21, 23, 40, 66 cm) Körbchen aus Eisendrahtgeflecht (15 cm lang und breit, 5 cm hoch) gebracht; ein Stück weißen Leinenzeuges diente als Unterlage, um etwas das Herauslaufen der eingebrachten Materialien zu verhindern. Die Körbchen enthielten Stuhl vom Menschen und Kuhmist, der mit verschiedenen Krankheitserregern beschickt war (Cholera, Typhus, Tuberkulose, Schweinerotlauf, Schweineseuche, Wild- und Rinderseuche und Geflügelcholera). Es zeigte sich bei dieser Versuchsanordnung, daß eine Abtötung der Infektionserreger nicht in allen Fällen erfolgte. Anderseits war es unausbleiblich, daß die Impftiere vielfach an anderen Krankheiten, wie an Starrkrampf, malignem Ödem und Septicämie eingingen, da sie nicht nur mit Seuchenkeimen, sondern auch mit den im Mist vorkommenden Bakterien geimpft wurden.

Ferner stellte Gärtner (29) auch die in den entsprechenden Tiefenlagen der Versuchshaufen herrschenden Temperaturen fest. In dem leicht angetretenen Mist wurde in 40 cm Tiefe die Maximaltemperatur am 3. Tage mit 70° C erreicht, in 60 cm Tiefe am 5. Tage mit 48°. Im ganz locker gelagerten Mist stieg die Temperatur in 46 cm Tiefe bis 47,5°, in 62 cm Tiefe bis 39°. In den Komposthaufen erzielte er in 21 cm bezw. 23 cm Tiefe Temperaturen von 27 bis 29,5°.

Aber wenn auch die Zahl der Versuche nur klein ist und sich der Benutzung aller natürlichen desinfizierenden Kräfte des Düngerhaufens für die Abtötung pathogener Keime große Schwierigkeiten für die Versuchsausführung ergeben, so gebührt doch Gärtner das Verdienst, eingehende Versuche über die Abtötung von tierpathogenen Keimen durch Düngerpackung durch seine Arbeit angeregt zu haben.

Hecker (45) benutzte, um einwandsfreie Resultate zu erzielen, bei seinen Abtötungsversuchen mit dem Virus der Maul- und Klauenseuche nur die sich im Düngerhaufen entwickelnde Wärme.

Er füllte Glasröhren teils mit nicht filtriertem, teils mit frischem, durch Bakterienfilter gereinigtem Bläscheninhalt, ferner Maulspeichel und Lymphe, die mit keimhaltiger oder steriler Jauche gemischt waren. Diese Röhrchen wurden zugeschmolzen und in Tiefen von 20, 40 und 60 cm neben Maximalthermometern in frischen Kuh- oder Schweinemist eingelegt. Nach 3, 6 und 9 Tage langem Liegen wurde der Inhalt der einzelnen Röhrchen auf seine Infektiosität an jungen Stieren geprüft. Nur mit dem Inhalte eines Röhrchens, das mit einem Bläscheninhalt gefüllt war und 3 Tage in 20 cm Tiefe gelegen hatte, gelang es einen Stier anzustecken. Bei diesen Versuchen konnte in Schichten von 40 cm eine Temperatur von 70° C. im Sommer, und bis 53° im Herbst festgestellt werden. Bei 60 cm Tiefe war die Temperatur wenig geringer. Bei 20 cm Tiefe zeigten sich wesentliche Schwankungen, die durch den Einfluß der äußeren Witterungsverhältnisse bedingt waren.

Pfeiler (46) hat zunächst die Wirksamkeit der Kompostierung an einer Reihe von Tierseuchenerregern geprüft, und zwar teils an solchen, mit denen Gärtner bereits gearbeitet hat, wie Geflügelcholera, Rotlauf, Schweineseuche und Tuberkulose, teils an solchen, deren Widerstandsfähigkeit gegen die im Mist wirkenden Faktoren noch nicht speziell festgestellt worden ist, wie Milzbranderregern und Bazillus suipestifer.

Er hat bei seinen Untersuchungen im wesentlichen wie Hecker nur die Wärmeeinwirkung bei der Abtötung berücksichtigt und daneben auch auf die Erreger des Milzbrands den Antagonismus der Bakterien und die veränderten chemischen Qualitäten im Mist wirken lassen.

Zunächst wurden in zahlreichen Versuchen die Temperaturen in den verschiedenen Höhen des Dunghaufens an den einzelnen Tagen festgestellt und dabei, wie auch schon Gärtner mitteilte, in den tieferen Schichten ein geringeres Ansteigen der Temperatur wahrgenommen, als in den höheren Schichten. Die Temperatur stieg meist in den ersten Tagen zu einem Maximum, um dann langsam und gleichmäßig in allen Schichten wieder zu fallen, so wurden z. B. in dem locker gepackten Kuhmist in den oberen Schichten von 20 und 40 cm Temperaturen von 71° erreicht, in den Schichten von 60 und 80 cm nur 57° und 60°.

Eine vorübergehende Steigung der Temperatur wurde durch reichliches Durchfeuchten des Misthaufens mit Wasser oder Jauche erzielt. Jedoch war diese Feuchtigkeit nicht imstande, die Temperatur dauernd auf einem höheren Temperaturgrad zu erhalten.

Aus den Abtötungsversuchen geht hervor, daß Schweinerotlauf bezw. Bacillus suipestifer, Schweineseuche, Geflügelcholera und Tuberkelbazillen durch einen Aufenthalt in locker gepacktem Kuh- oder Pferdemist (abwechslungsweise übereinander gelagert) innerhalb 8 Tagen bei einer von 49° auf 64° steigenden und dann auf 58° fallenden Temperatur abgetötet, Milzbrandbazillen abgeschwächt wurden.

In festgepacktem Kuhmist wurden in den obersten Schichten schon in den ersten 3—4 Tagen Temperaturen von 66° und 60° beobachtet, in den tieferen Schichten war die höchste Temperatur 47° und 41°. Geflügelcholera, Rotlauf, Bacillus suipestifer und Schweineseuche waren in 72 Stunden abgetötet, Milzbrandbazillen dagegen nicht.

Wird durch Bedecken des Dunghaufens mit Erde der Zutritt von Sauerstoff gehindert, so ist die Wärmeentwickelung im Innern des Haufens eine nur geringe (34°—40°).

In locker gepacktem, langem Pferdemist war infolge reichlichen Regens die Temperatur in den obersten Schichten (von 45° auf 75°, von 51° auf 60°) gestiegen, weniger in den tieferen schon ziemlich warmen Schichten (von 63° auf 64°, und von 76° auf 76½°). Eine 24 stündige Einwirkung einer von 70° auf 67° fallenden Temperatur hatte den Erreger der Geflügelcholera, des Rotlaufs, der Schweineseuche, den Bacillus suipestifer und die Tuberkelbazillen vernichtet, und eine von 75° auf 63° fallende Temperatur innerhalb 8 Tagen auch den Erreger des Milzbrandes.

Durch die 6 tägige Einwirkung einer Temperatur von 76½° auf 70° fallend wurden auch Milzbrandsporen abgetötet.

In demselben Versuche hatte auch eine 2 stündige Einwirkung von 65°, eine 6 stündige von 58° und eine 8 stündige von 56° Tuberkelbazillen zu vernichten vermocht.

Um den Antagonismus der Bakterien zur Vernichtung von Milzbrandbazillen auszunützen, wurden 24 stündige Milzbrandbouillonkulturen mit durchfeuchtetem Häckselstroh, Kot und Harn in eine Glasröhre gebracht, diese zugeschmolzen und bei einer Temperatur von 65° in einem Dunghaufen untergebracht. Nach 4 Tagen wurden die Röhrchen aus dem Haufen genommen und von dem Inhalt auf Agarplatten ausgestrichen. In einer Platte war Milzbrand reichlich gewachsen.

Auch im Torfmist, welcher mit Stroh vermengt und gut durchfeuchtet war, wurden Temperaturen von 62°—69° in den verschiedenen Schichten erzielt. In locker gepacktem Baumlaub erreicht die Temperatur schon in den ersten Tagen in den oberen Schichten 61° bis 60 cm Tiefe 67° und bei 80 cm Tiefe 69°. Milzbrandbazillen wurden in einer innerhalb 14 Tagen von 69° auf 50° fallenden Temperatur abgetötet.

Durch Umpacken von nicht völlig verrottetem Mist wurden Temperaturen von 53°—60° erzielt und zwar trat nach jeder Umpackung eine vorübergehende Temperatursteigerung von

10°—15° auf, bis zu Temperaturgraden, welche eine Abtötung der Testobjekte zustande brachten. Ein Aufgießen von Wasser blieb ohne Einfluß. Die höchsten Wärmegrade waren auch hier wieder in den oberen Schichten.

Zur Prüfung der antagonistischen Wirkung von Jauchebakterien auf Milzbrandbazillen wurden zwei Trinkgläser mit Pferdemist, mit Harn durchfeuchtetem Stroh und Jauche zur Hälfte angefüllt und damit die zerkleinerten Organe von Mäusen, welche an Milzbrand gestorben waren, vermischt. Das eine dieser Gefäße wurde bei 58°, das andere bei 63° aufbewahrt. Wie sich aus dem Plattenverfahren ergab, waren unter der Einwirkung dieser Temperaturen Milzbrandbazillen innerhalb von 4 Tagen abgetötet. Milzbrandorgane zerkleinert, in Mullbeuteln in einem Kotgemisch aus Kuhmist, Pferdemist und Streustroh ohne Jauche waren bei einer Einwirkung von 63° in 4 Tagen, bei einer Einwirkung von 58° in 7 Tagen unschädlich gemacht. In gleicher Weise waren auch Milzbrandsporen nach 10tägiger Einwirkung einer Temperatur von 58° vernichtet worden. Ja nach einem anderen Versuch sollen die Milzbrandsporen schon nach 5 Tagen, nicht aber nach 4 Tagen abgetötet worden sein.

Leider ist von Pfeiler nicht angegeben, welche Resistenzfähigkeit die von ihm benutzten Milzbrandsporen gegen strömenden Wasserdampf von 100° oder gegen bekannte Desinfektionsmittel hatten. Immerhin geht aber aus Pfeilers Versuchen im allgemeinen hervor, daß es durch Packung von Dünger unter bestimmten Voraussetzungen gelingt, die im Dünger enthaltenen Erreger von Geflügelcholera, Rotlauf, Schweineseuche, Tuberkulose und den Bacillus suipestifer lediglich durch Wärmeentwickelung zu zerstören. Diese Voraussetzungen sind nach Pfeiler

1. Packung des Düngers in Haufen von etwa 1 cbm Inhalt.
2. Lockere Lagerung des in ihnen enthaltenen Düngers.
3. Ein Verhältnis von Kot zu Stroh wie 2 : 3.
4. Innige Vermischung von Kot und Stroh.
5. Ein bestimmter Feuchtigkeitsgehalt des Düngers.

Unter Benutzung aller im Miste vorhandenen natürlichen, desinfizierenden Kräfte dürfte es nach Pfeiler auch gelingen, die Erreger des Milzbrands zu zerstören.

Nach ihm erfolgt die Abtötung der vorgenannten Keime mit Sicherheit in 14 Tagen. Eine gute Kontrolle hierfür ist neben der Temperaturfeststellung der Grad der Verrottung des Mistes.

Wenn schon Pfeilers Arbeit an sich wegen der Wichtigkeit und praktischen Bedeutung der Ergebnisse eine eingehende Nachprüfung erfordert, so erscheint eine solche auch deshalb angebracht, weil Pfeilers Versuche im Sommer und Herbst vorgenommen sind und die benutzten Dunghaufen nur 1 cbm Inhalt hatten. Es war von Interesse, das Verfahren auch während der kalten Jahreszeit und namentlich auch an größeren Düngermengen zu erproben, wie sie in der Praxis vorkommen.

Allgemeines.

Bei den von mir unter Leitung des Direktors Dr. Uhlenhuth im Kaiserlichen Gesundheitsamt ausgeführten Versuchen über die Abtötung von Infektionserregern im Dünger durch Packung benützte ich zur Feststellung der in den verschiedenen Tiefenlagen der Haufen herrschenden Wärmegrade die von Pfeiler angewandten Thermometer, welche den im Brauereigewerbe üblichen Maischethermometern nachgebildet sind und vom Institut für Gärungsgewerbe in Berlin angefertigt wurden. Sie sind 35 cm lang und in Celsius-Grade eingeteilt. Um ein möglichst langsames Reagieren zu erzielen, wurde das Ende der Quecksilberkapillare zu einem 5 ccm Hohlraum umgebildet und außerdem noch bei den Versuchen mit Watte umwickelt. Ich hatte somit eine größere Garantie für die Richtigkeit der abzulesenden Temperatur. Die

Thermometer befanden sich in einer runden Holzfassung, die nach unten in eine Spitze überging und nach oben in einen massiven Stiel, der je nach der gewünschten Länge 25, 50, 75 und 100 cm über der Mitte der Quecksilberkugel eine um denselben verlaufende Querrinne trug (Marke), bis zu welcher die Hülsenthermometer in die Dunghaufen versenkt wurden. Diese Marke grenzte somit den eigentlichen Stiel vom Handgriff ab.

Für die Quecksilberkugel war ein vorn und hinten etwa 5 cm langer ovaler Ausschnitt angebracht. In diesem Hohlraum um die Quecksilberkugel fanden die von mir verwandten Kulturen in kleinen Reagenzröhrchen ihre Aufnahme. Letztere hatten eine Länge von 7,5 cm und 1 cm Durchmesser. Sie waren in der Mitte verjüngt. Die untere Erweiterung der Röhrchen wurde zur Hälfte mit Bouillon gefüllt, nach gründlicher Sterilisation mit den zu prüfenden tierpathogenen Keimen beimpft, während 25 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten und danach auf Reinheit geprüft. An der Verjüngungsstelle wurden alsdann die Röhrchen abgeschmolzen und in Watte gewickelt, in den die Quecksilberkugel umgebenden Hohlraum gebracht. Letzterer erhielt seinen Abschluß durch Bindfadenumwicklung, die durch Reißnägel mit den Holzseiten fest verbunden blieb.

Der bei den Versuchen verwandte Stalldünger wurde in jedem Fall nach Alter, Herkunft und Qualität näher bezeichnet; er rührte stets von den in den Versuchsställen des Kaiserl. Gesundheitsamtes untergebrachten Haussäugetieren her.

Die Anlage der Düngerhaufen und ihr Volumen ist in den einzelnen Versuchen verschieden gewesen und in den nachfolgenden Darlegungen für jeden Fall besonders angegeben.

Die Hülsenthermometer wurden in der Regel von der Mittellinie der Oberfläche senkrecht in die Haufen gesteckt bis zu den Tiefen 25, 50, 75 und 100 cm. Hierzu wurden vorher mit einem lanzenartigen Eisenstab die entsprechend tiefen Löcher gemacht. Zur Feststellung der an der Düngeroberfläche oder in 5—10 cm Tiefe herrschenden Temperatur kamen etwa 25 cm lange Maximalthermometer zur Anwendung.

Von sämtlichen Thermometern wurden täglich gegen Mittag die Temperaturen abgelesen und verzeichnet.

Nach Ablauf jedes Abtötungsversuches wurden aus den Hülsenthermometern die Kulturröhrchen entfernt. Nach einiger Reinigung wurde das abzubrechende Ende in der Flamme abgebrannt und seine Kuppe mit steriler Pinzette entfernt. Aus der Kulturflüssigkeit jedes Röhrchens wurden im allgemeinen zehn Normal-Platin-Ösen auf fünf gewöhnliche Agarplatten ausgestrichen und außerdem Versuchstiere mit großen Dosen geimpft. Aus dem Herzblut oder dem Organsaft der verendeten Versuchstiere wurden wieder Agarplatten beimpft. Für Bakterien, welche auf Malachitgrünagar oder Drigalski-Agar ein charakteristisches Wachstum haben, wurden die letzteren Nährböden benutzt. Dasselbe Verfahren kam auch bei den im Zimmerschrank aufgehobenen, zugeschmolzenen Röhrchen mit den Kontrollkulturen bezw. bei der Impfung der Kontrollversuchstiere zur Anwendung.

Die in der Zeit vom November 1907 bis Mai 1908 ausgeführten Versuche hatten bei ihrer verschiedenen Anordnung zunächst den Zweck, die in den Tiefenlagen von 25, 50, 75 und 100 cm, sowie an der Oberfläche der Misthaufen herrschenden Temperaturen festzustellen, um hierdurch etwaige für die Praxis verwertbare Gesetzmäßigkeiten zu ermitteln. Ferner bildeten zu den Angaben der täglichen Temperaturmessungen die Resultate der Abtötungsversuche wertvolle Ergänzungen. Diese Ergebnisse sind in jedem Versuch einzeln besprochen und zur besseren Übersicht auch tabellarisch dargestellt. Der Platz für die Ausführung der Versuche war an der Südseite durch einen Stall geschützt, sonst lag er frei auf einjährigem Rasen. Die Versuchsordnung und sonstigen Dispositionen waren folgende.

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer			Lufttemperatur in C°	
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	1	2	3	Max.	Min.
3. 1.	55	20	13	23	5	16	19	— 5,5	— 11,0
4. 1.	50	14	13	24	11	14	15	— 0,1	— 9,0
5. 1.	54	15	8	23	6	18	3	2,0	— 0,5
6. 1.	58	17	11	26	13	25	7	1,8	— 1,0
7. 1.	57	41	27	38	14	29	19	5,5	— 0,8
8. 1.	56	56	42	47	19	35	36	5,5	2,5
9. 1.	21	10	52	16	18	32	38	3,2	— 5,0
10. 1.	13	5	28	12	20	26	35	0,0	— 9,0
11. 1.	9	5	15	17	11	15	23	— 1,4	— 9,0
12. 1.	7	5	18	21	9	19	15	— 0,7	— 4,2
13. 1.	17	11	36	27	7	31	17	1,5	— 2,2
14. 1.	16	25	50	29	11	12	18	2,5	— 6,1

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß das in 25 cm Tiefe stehende Thermometer am 4. Tag mit 58° C[1]) die Höchsttemperatur erreichte und innerhalb 6 Tagen die Temperatur zwischen 50° und 58° hielt, was zur Vernichtung der meisten tierpathogenen Keime ausreichen würde. Die Thermometer in 50 cm und 100 cm Tiefe zeigen am 6. Tage die Maximaltemperatur mit 56° bezw. 47° und das bei 75 cm Tiefe stehende Thermometer weist das Maximum mit 52° am 7. Tage auf. Es ist ferner auffallend der jähe Abfall in der Höchsttemperatur auf die am folgenden Tage gemessene. Das auf 1 m Tiefe eingestellte Thermometer stand schon am 4. Tage direkt auf dem Erdboden und es sind daher die verhältnismäßig niederen Wärmegrade zurückzuführen auf den Ausgleich zwischen Mistwärme und Erdbodentemperatur.

Auch in 75 cm und 50 cm Tiefe ist das thermometrische Ergebnis recht ungünstig, da innerhalb von 3 Tagen die Maximalkurve hier von 42° auf 52° stieg und auf 28° fiel, beziehungsweise von 41° auf 56° stieg und auf 10° fiel. Im allgemeinen ergibt also die dachförmige Anlage des Haufens bei lockerer Packung ohne Eindeckung kein besonders günstiges Resultat hinsichtlich der Erreichung einer hohen Temperatur, bei der in allen Schichten die meisten Infektionserreger unschädlich gemacht werden.

Bei dem am 15. 1. erfolgten Abbruch zeigen die Außenschichten ausgebleichtes und ausgewaschenes, gelblich weißes Stroh von mürber Beschaffenheit und unverrottetem Mist; in den unteren Lagen und in der Umgebung der Stelle, an welcher das 25 cm-Thermometer versenkt war, wechseln kurzer, brauner, saftiger Mist und verrottete Massen miteinander ab.

[1]) Die Temperaturgrade sind bei allen folgenden Zahlen nach Celsius berechnet.

I. Versuchsreihe.

Locker gepackte Miete, direkt auf dem Erdboden, also ohne Unterlage, errichtet.

1. Ohne Erdeindeckung,
2. mit Erdeindeckung,
   a) ohne Kulturen, b) mit Kulturen.

1. Versuch. Am 2. 1. wird ein Haufen aus 1—2 Tage altem Stallmist, der von Rindern, Eseln und Pferden herrührt, auf einer rechteckigen Grundfläche von 4,5 Quadratmeter (3 m lang, 1,5 m breit) direkt auf dem Erdboden, also ohne Isolierlage errichtet. Alsdann wurde der frische Stallmist locker aufgepackt und so geschichtet, daß die Gestalt eines steilen Daches entstand. Von der Firstlinie, welche vom Erdboden 1,15 m entfernt ist, werden 4 Hülsenthermometer von 25 cm, 50 cm, 75 cm und 100 cm Länge in den Haufen versenkt und während 12 Tagen deren Temperatur festgestellt. Außerdem wurde durch 3 Maximalthermometer, die von der Mitte der Nord-, Ost- und Südseite etwa 5 cm tief in den Haufen gestellt waren, die Wärme der Haufenoberfläche gemessen. Die näheren Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 7 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 7 Uhr			
769,8	768,0	765,1	89	69	58	—	W.	1
760,5	760,4	763,9	74	92	100	—	W.	3
765,0	765,6	766,3	98	90	83	—	W.	3
765,2	760,2	750,2	82	85	73	0,2	SSW.	3
745,2	747,8	748,6	93	94	97	1,2	WSW.	3
743,1	738,2	736,6	93	91	89	0,2	S.	3
734,0	735,6	742,9	88	94	85	1,4	NO.	3
752,6	758,0	761,7	90	77	75	5,0	NNW.	3
763,2	764,8	767,0	87	86	80	1,2	WNW.	4
766,6	766,4	767,0	87	84	92	—	W.	2
767,6	768,4	769,0	82	89	82	—	W.	1
767,6	766,4	766,0	82	81	70	—	S.—W.	2

Die 3 Maximalthermometer wiesen ihre Höchsttemperatur mit 20°, 35° und 38° auf. Diese Wärmegrade wirken für die pathogenen Bakterien eher förderlich, als nachteilig oder gar abtötend.

Somit geht aus diesem Versuch hervor, daß es in der kalten Jahreszeit nicht ratsam erscheint, den zu desinfizierenden Dünger direkt auf den Erdboden zu schichten, da in der Tiefe nicht Wärmegrade erzielt werden, die zur Abtötung der im Dünger vorhandenen Infektionserreger ausreichen. Ferner würden in diesem Fall tierpathogene Keime in den Außenschichten des Düngers sicher nicht vernichtet sein.

2. Versuch (2a). Am 29. Februar 1908 wurde ein Haufen aus 1—8 Tage altem Stallmist dachförmig aufgebaut, der von Rindern, Eseln, Schweinen, Schafen und Pferden herrührte. Nachdem ein Rechteck auf dem Erdboden von 1,5 m Breite und 5 m Länge abgesteckt war, wird der Stalldung direkt hierauf, also ohne eine Isolier-Unterlage abgeladen, dachförmig geschichtet und von den Dienern in verschiedenen Höhenlagen längere Zeit festgetreten. Der Haufen war in seiner Rückenlinie schließlich im Durchschnitt etwa 1,10 m hoch und wurde danach mit Erde gut zugedeckt, so daß seine First schließlich 1,20 m vom Boden entfernt war.

Vom Rücken dieses Haufens aus wurden 4 Hülsenthermometer versenkt und zwar je 1 bis zur Tiefe von 25, 50, 75 und 100 cm. Ferner kamen 2 Maximalthermometer zur Anwendung, die etwa 25 cm lang waren und durch die Erddecke bis in die Oberfläche des Düngerhaufens gesteckt waren. Die Temperatur wurde 16 Tage lang festgestellt. Das nähere ist aus der beifolgenden Tabelle ersichtlich.

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer		Lufttemperatur in C°	
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Nr. 1	Nr. 2	Max.	Min.
2. 3.	35	60	33	30	30	30	7,4	— 0,4
3. 3.	**70**	**63**	50	42	38	34	4,5	0,1
4. 3.	67	62	**52**	**48**	36	37	2,3	0,5
5. 3.	64	48	47	45	38	35	6,1	1,9
6. 3.	62	40	46	46	37	36	7,7	0,7
7. 3.	60	35	45	40	35	**40**	11,0	2,0
8. 3.	60	30	42	43	40	35	7,5	1.5
9. 3.	62	29	40	39	43	28	11,5	3,2
10. 3.	60	29	45	35	**46**	30	9,0	2,9
11. 3.	55	27	42	28	42	32	8,5	4,1
12. 3.	42	28	39	24	37	28	5,8	0,4
13. 3.	36	25	37	23	35	29	0,8	— 1,6
14. 3.	37	24	33	30	31	27	0,6	— 3,0
15. 3.	33	25	29	29	31	25	0,4	— 1,2
16. 3.	30	26	27	34	29	27	3,0	— 1,8

Hieraus ergibt sich, daß das 25 cm tief stehende Thermometer das Maximum der Temperatur am 4. Tage mit 70° zeigte, das bei 50 cm Tiefe gehaltene erreichte die Höchsttemperatur mit 63° am 2. Tage. Bei 75 cm und 1 m Tiefe wurde das Temperaturmaximum am 3. Tage mit 52° beziehungsweise 48° erreicht. Die beiden Maximalthermometer zeigten am 9. bezw. 6. Tage die höchsten Wärmegrade mit 46° und 40°.

Nachdem am 16. 3. die Höhe der eingedeckten Düngermiete mit 0,90 m festgestellt war, wurde sie umgebrochen. Abgesehen von den untersten, dem Erdboden aufliegenden Schichten war der Mist im Beginn fast gleichmäßig guter Verrottung, in den erstgenannten konnte man noch braunen Rinderkot und lange gelbbraune Strohhalme durchweg und deutlich erkennen.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß es im Winter bei der Packung von Seuchendünger direkt auf dem Erdboden nicht gelingt, in den untersten Schichten Temperaturen hervorzurufen, welche die Mehrzahl der Infektionserreger abtöten. Aber auch an der Dungoberfläche konnten unter der Erdeindeckung nicht Wärmegrade nachgewiesen werden, durch welche tierpathogene Keime vernichtet werden. Während der ersten Woche der Versuchsdauer stand

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer			Lufttemperatur in C°	
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	I	2	3	Max.	Min.
12. 3.	52	53	41	28	58	34	28	5,8	0,4
13. 3.	**66**	65	46	31	43	47	39	0,8	— 1,6
14. 3.	60	**65**	52	40	54	57	50	0,6	— 3,0
15. 3.	54	62	**57**	40	49	58	49	0,4	— 1,2
16. 3.	45	59	56	**41**	43	**59**	**51**	3,0	— 1,8
17. 3.	35	53	51	40	34	37	35	4,4	— 2,5
18. 3.	30	49	44	38	26	32	30	4,4	— 0,6
19. 3	26	46	43	36	25	30	35	6,9	0,8
20. 3.	25	44	35	32	31	28	36	8,1	3,0
21. 3.	23	42	39	35	25	22	30	9,6	4,0

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Nieder-schlags in mm	Vor-herrschende Wind-richtung	Wind-stärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 7 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
749,8	750,8	752,0	80	36	74	—	SO.	3
753,7	753,0	753,4	91	71	87	—	O.	4
754,6	756,6	757,8	93	86	85	5,8	SO.	2
755,3	756,7	757,6	92	67	86	3,1	SW.	3
758,4	755,6	753,0	90	47	75	0,4	SSO.	4
750,9	752,0	753,9	74	52	76	—	S.	3
754,6	754,4	754,0	85	70	86	—	SW.	2
748,8	746,3	744,6	92	69	84	1,1	SSW.	4
744,1	742,8	741,9	90	53	76	1,3	SSW.	3
741,4	742,4	743,8	86	63	86	1,0	SSW.—NO.	3
747,2	749,8	751,6	94	76	77	12,0	NNW.	3
752,6	753,6	755,4	86	77	82	0,2	W.	3
756,8	757,9	759,4	85	92	100	0,2	NW.	3
760,7	761,5	761,7	84	75	70	1,1	NNO.	2
760,4	759,6	759,9	82	65	85	—	NNO.—O.	2

das Minimum der Lufttemperatur stets über 0°; außerdem herrschten vorwiegend südliche Winde und regnerisches Wetter.

3. *Versuch* (2b). Am 10. 3. 08 wurde ein Haufen dachförmig errichtet aus 1—8 Tage alten Stallmist, der von Rindern, Eseln, Schweinen, Schafen, Ziegen und Pferden herrührte. Nachdem, wie beim vorigen Versuch, auf dem Erdboden eine rechteckige Fläche von 7,5 Quadratmetern (5 m lang und 1,5 m breit) abgesteckt war, wird der Dünger direkt auf den Erdboden abgeladen, in Dachform aufgeschichtet und hierbei in den verschiedenen Höhenlagen leicht angetreten, sodaß schließlich seine Höhe von der Firstlinie aus gemessen ca. 1,10 m betrug. Alsdann wurde er mit Erde beworfen; diese Hüllschicht hatte durchschnittlich eine Dicke von 10 cm. Der Haufen erstreckte sich der Länge nach von Ost nach West.

Zur Feststellung der Temperatur in Tiefe von 25 cm, 50 cm, 75 cm und 1 m diente je 1 Hülsenthermometer, ferner gelangten 3 etwa 25 cm lange Maximalthermometer zur Messung der direkt unter der Erddecke herrschenden Temperatur zur Verwendung. Die erstgenannten wurden von dem Rücken des Haufens aus versenkt. Die 3 Maximalthermometer wurden fast wagerecht von der Mitte des Ost- und Westendes, sowie von der Mitte der Südseite aus durch die Erdschicht gesteckt, bis die Quecksilberkugeln und deren nähere Umgebung in die oberflächlichsten Mistlagen kamen. Nähere Angaben finden sich in der beifolgenden Tabelle.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Nieder-schlags in mm	Vor-herrschende Wind-richtung	Wind-stärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
747,2	749,8	751,6	94	76	77	12,5	NNW.	3
752,6	753,6	755,4	86	77	82	0,2	W.	3
756,8	757,9	759,4	85	92	00	0,2	NW.	3
760,7	761,5	761,7	84	75	70	1,1	NNO.	2
760,4	759,6	759,9	82	65	85	—	NNO.—O.	2
759,4	758,3	761,1	80	60	85	—	O.	3
754,9	753,3	753,1	84	76	86	—	O.	3
752,8	752,7	754,2	86	69	90	1,3	O.	2
754,5	754,9	755,6	92	70	93	0,2	O.	2
757,0	757,7	758,7	94	64	75	0,2	O.	3

Während 10 Tagen wurden vom 12. 3. bis 22. 3. die Temperaturen beobachtet. Am 4. Tage zeigten die Tiefen von 25 cm und 50 cm das Maximum der Temperatur mit 66° und 65° an. bei 25 cm Tiefe waren 2 Tage lang 60° bis 66°, bei 50 cm 3 Tage lang 62°—65°. In der Tiefe von 75° herrschte am 6. Tage eine Höchsttemperatur von 57°, die innerhalb von 3 Tagen auf 51° sank. In der Tiefe von 100 cm wurden als Maximum nur 41° nach 7 Tagen erreicht. Die Maximalthermometer stiegen auf dem Ost- und Westende bis 58° und 59° an und hielten während 2 Tagen 54°—58° bezw. während 3 Tagen 57°—59°. Das an der Südseite stehende Maximalthermometer hatte während 3 Tagen 49°—51°.

Bei diesem Versuch waren noch ferner in den um die Quecksilberkugeln vorhandenen Hohlraum aller 4 Hülsenthermometer je 6 zugeschmolzene Glasröhrchen untergebracht, die in Bouillonkultur die Erreger des infektiösen Scheidenkatarrhs der Rinder, des seuchenhaften Abortus der Stuten, des Bakterium coli der Kälberruhr, den Mäuse-Typhusbazillus und den Bazillus enteritidis Gärtner beherbergten. Ferner enthielten 4 leere, sterile Gläschen Milzbrandsporen, die gegen strömenden Wasserdampf von 100° eine Resistenz hatten, welche 1 ½ Minuten anhielt. Die Ergebnisse dieses Versuches sind tabellarisch zusammengestellt und gleichzeitig ist das Resultat des Tierversuches verzeichnet worden.

Kulturversuch.

Erreger von	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Kontrolle
Milzbrandsporen	+	+	+	+	+
Infektiöser Scheidenkatarrh	—	—	—	+	+
Abortus der Stuten	—	—	—	+	+
Kälberruhr	—	—	—	+	+
Bacillus enteritidis Gärtner	—	—	—	+	+
Bacillus typhi murium	—	—	—	+	+
Tierversuch.					
Milzbrandsporen	+	+	+	+	+
Infektiöser Scheidenkatarrh	—	—	—	+	+
Abortus der Stuten	—	—	—	+	+
Kälberruhr	—	—	—	+	+
Bacillus enteritidis Gärtner	—	—	—	+	+
Bacillus typhi murium	—	—	—	+	+

Der Abtötungsversuch ergab, daß die Milzbrandsporen in der angegebenen trocknen Aufbewahrung in allen 4 Tiefenlagen nicht abgetötet werden. Auf dem beimpften Agar gingen für Mäuse virulente Milzbrandkolonien auf, und die mit dem Sporenmaterial geimpften Mäuse verendeten nach 1—2 Tagen an Milzbrand. Für die übrigen Kulturen aus den Tiefenlagen 25, 50 und 75 cm ergaben sowohl das Agar-Platten-Verfahren, wie der Tierversuch negative Resultate. Auf Agar fand kein Wachstum statt und die Impftiere blieben am Leben. Dagegen waren alle genannten Erreger in den Bouillonkulturen aus 1 m Tiefe noch lebensfähig und virulent für Mäuse. Sämtliche Kontrollen für die im Abtötungsversuch befindlichen Mikroben fielen positiv aus. Auf Agar wuchsen sie in Reinkultur und die geimpften Tiere verendeten in 1—2 Tagen.

Aus dieser Versuchsanordnung ergibt sich, daß sowohl an der Oberfläche des Düngerhaufens wie in seinen Tiefenlagen von 25, 50 und 75 cm Temperaturen erzielt wurden, die zur Vernichtung der größten Zahl der tierpathogenen Erreger genügen, und wie hier gezeigt wurde, mit Ausnahme für Milzbrandsporen auch genügt haben. Dagegen blieben direkt über dem Erdboden wegen zu geringer Wärmegrade die genannten Mikroorganismen am Leben.

An der Oberfläche der Dungmiete gaben von den drei Maximalthermometern Nr. 1 und Nr. 2 Wärmegrade an, welche zur unschädlichen Beseitigung der meisten tierischen Infektionserreger ausreichen. In der ersten Woche der Versuchsdauer war Frostwetter; das Minimum der Lufttemperatur stand stets unter 0°.

Aus den drei Versuchen dieser Versuchsreihe I ergibt sich somit, daß in der kalten Jahreszeit in den dem Erdboden zunächst liegenden Düngerschichten nicht

Wärmegrade entstehen, durch welche die tierpathogenen Infektionserreger mit Sicherheit unschädlich beseitigt werden. Es ist daher notwendig, zwischen Erdboden und dem zu desinfizierenden Dünger einen schlechten Wärmeleiter z. B. Streustroh oder nicht infizierten Dünger als Isolierlage anzubringen.

Ferner genügt die Eindeckung des Haufens mit Erde nicht immer, um an der Düngeroberfläche Wärmegrade zu erzielen, welche mit Sicherheit die meisten der Erreger von Tierkrankheiten abtöten. Setzt nach Anlegen der Düngermiete und Eindecken derselben mit Erde Frostwetter ein, so werden, da das gefrorene Erdreich die Wärmeabgabe nach außen bedeutend vermindert, derart hohe Wärmegrade entstehen, durch die tierpathogene Keime in der Regel abgetötet werden.

II. Versuchsreihe.

Locker gepackte Mieten, auf einer Isolierlage von Stroh oder langem Stallmist errichtet.

1. Ohne Streu oder Erdeindeckung,
2. mit Dungeindeckung allein,
3. mit Erdeindeckung allein (3a, 3b, 3c),
4. mit Streu und Erdeindeckung.

1. Versuch. Der am 16. Dezember 1907 errichtete Haufen enthielt 1—2 Tage alten Stallmist, welcher zu 3 Teilen aus Stroh und zu 1 Teil aus Kot bestand und von Rindern, Eseln, Schafen, Ziegen, Pferden und Schweinen herrührte.

Der gefrorene Erdboden wurde auf rechteckiger Grundfläche von 3 m Länge und 1 m Breite mit etwas Stallmist und Streustroh in ca. 25 cm hoher Schicht bedeckt. Auf dieser Unterlage wurde alsdann Stallmist bis zur Höhe von 1,35 m schichtweise derart aufgebaut, daß der Dünger locker liegen blieb, wie man ihn mittels der Dunggabeln von den Karren ablud. Er wurde also nicht festgetreten, und stand frei ohne irgend welche Eindeckung. Dieser Haufen wurde mit 8 Hülsenthermometern zu 2 Serien beschickt und zwar je 2 zu 25 cm, 50 cm., 75 cm und 1 m Tiefe. In dem die Quecksilberkugel umgebenden Hohlraum waren zugeschmolzene Glasröhrchen untergebracht, in denen sich Bouillonkulturen von 11 Bakterienarten befanden. Die erste Serie enthielt die Erreger des Milzbrands, der Geflügelcholera, Kälberruhr, Druse, Wild- und Rinderseuche, sowie den Bacillus pyocyaneus. In der zweiten Serie waren die Erreger des Rotlaufs, der Schweineseuche, der Tuberkulose und zwar Typus humanus und Typus bovinus, sowie der Bacillus suipestifer.

Der Haufen erstreckte sich der Länge nach von Norden nach Süden. Die Hülsenthermometer wurden von der Mittellinie der Oberfläche in die entsprechende Tiefe gesenkt und zwar begannen von der Nordseite her die Thermometer mit der ersten Bakterien-Serie, während die der zweiten Serie an der Südseite endeten. Folgende Tabellen veranschaulichen den Versuch mit seinen Resultaten.

Serie 1.

	Milzbrand	Geflügelcholera	Kälberruhr	Druse	Wild- und Rinderseuche	Bacillus pyocyaneus
			Agar-Platten-Kultur.			
25 cm Tiefe	+ +	—	—	—	—	—
50 „ „	+ +	—	—	—	—	—
75 „ „	+	—	—	—	—	—
100 „ „	+	—	—	—	—	—
Kontrolle	+ +	+	+	+	+	+
			Tier-Versuch.			
25 cm Tiefe	+ +	—	—	—	—	—
50 „ „	+ +	—	—	—	—	—
75 „ „	+	—	—	—	—	—
100 „ „	+	—	—	—	—	—
Kontrolle	+ +	+	+	+	+	+

Serie 2.

	Tuberculose Typ. hum.	Tuberculose Typ. bov.	Rotlauf	Bacillus suipestifer	Schweineseuche
		Agar-Platten-Kultur.			
25 cm Tiefe	nicht angelegt	nicht angelegt	—	—	—
50 „ „	„	„	—	—	—
75 „ „	„	„	—	—	—
100 „ „	„	„	—	—	—
Kontrolle	„	„	+	+	+

Datum	Hülsenthermometer								Maximalthermometer			
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	1	2	3	4
17. 12.	38	37	47	34	26	56	42	30	3	15	19	13
18. 12.	27	53	40	33	20	57	47	57	8	16	25	15
19. 12.	14	39	12	11	1	24	57	33	15	14	26	17
20. 12.	39	54	16	19	43	59	64	53	30	13	30	20
21. 12.	10	20	8	11	16	47	53	45	18	10	16	22
22. 12.	—	8	11	30	16	28	53	41	21	20	18	19
23. 12.	—	50	35	55	52	19	36	48	32	35	29	30
24. 12.	—	52	57	58	55	15	15	46	19	18	26	25
25. 12.	—	50	59	57	51	17	9	40	12	17	19	18
26. 12.	—	57	58	57	57	18	20	16	5	21	17	12
27. 12.	—	54	55	58	47	7	34	39	13	23	21	22
28. 12.	—	52	50	55	46	11	27	36	18	16	22	16
29. 12.	—	53	48	56	50	13	33	37	17	19	18	14
30. 12.	—	51	45	53	49	14	32	35	15	17	17	19

Es ist ersichtlich, daß die Höchsttemperatur in der ersten Serie mit 57°, 59° bezw. 58° nach 11, 10 bezw. 9 Tagen erreicht wurde. Das in 25 cm Tiefe stehende Thermometer war am 7. Tage defekt, der Quecksilberfaden befand sich nicht mehr im Zusammenhang, daher konnte keine weitere Messung vorgenommen werden. Dagegen blieb das Thermometer bis zum Abbruch des Haufens mit den Kulturen in der genannten Tiefe stecken.

Die zweite Serie erreichte die Höchsttemperatur nach 3—5 Tagen mit 57° bis 64°. Nur in 25 cm Tiefe trat mit 57° das Maximum der Temperatur nach 11 Tagen ein.

Im allgemeinen zeigten die inneren Schichten des Haufens schneller eine Temperatur, in der viele tierische Infektionserreger bereits vernichtet werden, als die äußeren Schichten, was seine Erklärung natürlich findet in dem Wärmeausgleich zwischen der Oberfläche des Misthaufens und der umgebenden kalten Luft, oder dem anfangs ca. 10 cm tief gefrorenen Erdboden.

Es ist ferner der vom 19. 12. zum 20. 12 erfolgte, teilweise erhebliche Aufstieg der Temperatur in allen Tiefen bemerkenswert. Der Haufen war nämlich am 19. 12. mit 5 Eimern (à 10 Liter) Jauche und lauwarmen Wasser begossen worden.

Am 30. 12. wurden die Hülsenthermometer aus dem Haufen entfernt. In der Zeit vom 16. 12. bis 31. 12., also in 15 Tagen war der Haufen in sich zusammengesunken von 1,10 m auf 70 cm Höhe, also um 40 cm. Es ragte am Schlusse des Versuchs das Hülsenthermometer von 1 m noch 30 cm unterhalb der Marke aus dem Haufen hervor; ähnlich das von 75 cm Länge noch 5 cm.

Bei dem am 31. 12. erfolgten Abbruch des Haufens zeigten nur die Außenflächen gelbes Langstroh, sonst bestand der Dünger namentlich in der Mitte aus humusartigen Kotresten und grau verbrannten Stellen, sowie aus nicht ganz verrottetem Mist mit saftigen braunen Strohteilen.

	Tuberculose Typ. hum.	Tuberculose Typ. bov.	Rotlauf	Bacillus suipestifer	Schweineseuche
		Tier-Versuch.			
25 cm Tiefe	—	—	—	—	—
50 „ „	—	—	—	—	—
75 „ „	—	—	—	—	—
100 „ „	—	—	—	—	—
Kontrolle	+	+	+	+	+

Lufttemperatur in C°		Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
Max	Min.	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
0,8	— 1,9	771,9	771,8	772,2	76	83	70	—	NW.	2
0,9	— 3,2	768,2	762,9	758,8	79	83	83	—	S.	4
5,4	0,9	753,9	754,7	754,6	98	94	96	2,0	WSW.	3
9,1	6,3	753,4	754,6	755,6	99	97	98	7,0	S.	3
9,0	7,2	754,6	752,4	750,4	90	100	89	7,8	SW	4
8,0	6,0	751,7	757,0	760,9	87	89	86	2,3	W	3
7,7	4,5	762,1	762,6	762,8	83	77	87	1,3	SSW.	3
6,8	4,0	759,0	760,2	762,0	96	88	89	2,0	NW.	4
6,9	— 0,1	762,6	761,4	760,7	83	89	96	2,8	NW.	3
0,5	— 6,6	760,1	759,8	759,3	87	87	85	0,8	O	3
— 9,6	— 5,5	756,8	755,0	754,6	86	84	90	—	O.	3
— 5,0	— 7,2	753,8	753,6	754,4	92	90	88	0,6	O.	3
4,3	— 5,0	755,2	756,8	759,5	83	81	88	—	O.	2
— 1,5	— 5,9	761,6	761,8	762,2	89	84	86	—	O.	2

Die in den zugeschmolzenen Glasröhrchen enthaltene Bakterienflüssigkeit wurde am 30. 12. zunächst bis auf die Erreger der Tuberkulose zu Agarplattenkulturen verimpft, danach erhielten die Versuchstiere 3 Ösen beziehungsweise den Rest der Bouillon-Kulturen eingespritzt; und zwar Hühner intramusculär die der Geflügelcholera; Kaninchen subkutan die der Wild- und Rinderseuche; Meerschweinchen subkutan die Tuberkulose-Erreger und Mäuse subkutan 5 Ösen Bouillonkultur der übrigen bei diesem Versuch verwandten Bakterien. Ferner wurden aus den Originalkulturen, die bei Zimmertemperatur im Schrank gestanden hatten, auf Agarplatten Ausstriche gemacht und Versuchstiere in entsprechender Weise infiziert.

Die Kontrollplatten, welche 1 Tag bei 37° gestanden hatten, zeigten nur Reinkulturen der betreffenden Infektionserreger.

Die Kontrollmäuse, welche mit den Erregern des Milzbrands, der Druse und Kälberruhr, dem Bacillus suipestifer und dem Bacillus pyocyaneus geimpft waren, verendeten nach 1 bis 2 Tagen. Die Kontrollmäuse für Schweineseuche und Rotlauf nach 3 bezw. 4 Tagen. Das Kontroll-Kaninchen mit Wild- und Rinderseuche nach 2 Tagen, das Kontrollhuhn mit Geflügelcholera nach 4 Tagen. Aus dem Herzblut aller verendeten Versuchstiere ließen sich auf Agarplatten Reinkulturen der entsprechenden Infektionserreger züchten. Das mit Tuberkulose und zwar Typus humanus geimpfte Meerschweinchen verendete am 10. 3. 08, das mit Typus bovinus infizierte wurde am 12. 3. getötet. Beide Tiere boten bei der Obduktion das Bild der generalisierten Tuberkulose. Vornehmlich die Lymphdrüsen der Kniefalten, die Milz, die Leber und die Lungen waren Sitz hochgradig tuberkulöser Veränderungen. Die mit Milzbrandbouillon aus 25 cm und 50 cm Tiefe geimpften Agarplatten zeigten, 1 Tag bei 37° gehalten, ein üppiges Wachstum der Milzbrandbazillen und Fäden, während auf den Agarplatten, die mit Bouillon

aus 75 cm und 100 cm Tiefe infiziert waren, nur einige Kolonien aufgingen. Ein ähnlicher Unterschied fand sich in der Reaktion der Impfmäuse. Die mit 3 Ösen Bouillonkultur aus 25 cm bezw. 50 cm Tiefe geimpften Mäuse verendeten nach 1 Tag, die entsprechenden für die Tiefen 75 cm und 1 m waren nach 3 Tagen tot.

Die in allen vier Tiefenlagen gehaltenen Erreger der Geflügelcholera, Druse, Schweineseuche, Wild- und Rinderseuche, des Rotlaufs, des Bacillus suipestifer und des Bacillus pyocyaneus zeigten auf den Agarplatten kein Wachstum und töteten die Versuchstiere nicht. Die am 15. 3. getöteten 8 Tuberkulose-Meerschweinchen, welche mit Bouillonkultur des Typus humanus und Typus bovinus aus den vier Tiefenlagen subkutan geimpft waren, zeigten keine tuberkulösen Veränderungen.

Außerdem wurden je 2 Maximalthermometer zum Messen der in den Oberflächenschichten dieses Düngerhaufens herrschenden Temperaturen angewandt. Nr. 1 und Nr. 2 wurden von der Mitte der Ost- und Südseite schräg nach unten etwa 5 cm tief in den Haufen gesteckt, und Nr. 3 und 4 von der Mitte der West- und Nordseite etwa 10 cm.

Die täglich festgestellten Temperaturen ergaben als Maxima nur 30° und 35°. Diese Wärmegrade sind dem Wachstum tierpathogener Keime aber nur förderlich. Die Oberfläche des Haufens war vielfach gefroren und bekanntlich haben die Mikroorganismen gerade der Kälte gegenüber eine große Widerstandskraft.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß es gelingt, bei Verwendung einer etwa 25 cm hohen Isolierschicht aus Streustroh und Stallmist auch in den untersten Lagen des Seuchendüngers Wärmegrade zu erzielen, durch welche tierpathogene Keime vernichtet werden. Doch würden letztere in den äußeren Schichten, besonders an der Oberfläche des Haufens ohne Eindeckung desselben sicher nicht abgetötet sein.

Ferner bedingt das Begießen des Düngers mit lauwarmem Wasser und mit Jauche ein schnelles Ansteigen der Temperatur innerhalb des nächsten Tages.

2. Versuch. Der am 23. 12. errichtete Haufen bestand aus 1—2 Tage altem Stallmist und rührte von Rindern, Pferden, Eseln und Schweinen her. Der Erdboden wurde zunächst auf einer rechteckigen Grundfläche von 3 Quadratmetern (3 m lang, 1 m breit) mit 20 cm hoher Schicht von Streustroh und strohigem Mist bedeckt. Auf diese Isolierschicht wurde der Dünger schichtweise gebracht und angetreten, bis auf diese Weise etwa ein Raummeter von Stalldung aufgebaut war. Die Oberfläche des Haufens war von dem Erdboden 1,10 m entfernt. Alsdann wurde der Haufen an seiner Gesamtoberfläche mit einer 5 cm dicken Strohschicht belegt, über

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer					Lufttemperatur in C°	
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	1	2	3	4	5	Max.	Min.
27. 12.	15	69	58	68	—	—	—	—	—	— 2,6	— 5,5
28. 12.	73	71	27	63	—	—	—	—	—	— 5,0	— 7,2
29. 12.	70	65	60	70	8	4	18	35	— 3	— 4,3	— 5,0
30. 12.	72	69	42	64	— 5	— 4	19	64	12	— 1,5	— 5,9
31. 12.	71	64	49	64	35	10	17	35	67	— 1,1	— 5,6
1. 1.	67	60	45	60	43	28	50	67	50	— 2,5	— 9,1
2. 1.	69	65	44	61	45	49	56	67	43	— 6,0	— 9,0
3. 1.	67	64	42	60	45	55	55	67	33	— 5,5	— 11,9
4. 1.	66	64	43	60	31	47	45	66	42	— 0,1	— 9,0
5. 1.	59	61	40	59	22	42	39	60	45	2,0	— 0,5
6. 1.	61	63	40	60	39	44	31	67	42	1,8	— 1,0
7. 1.	63	60	35	58	34	43	48	66	31	5,5	— 0,8
8. 1.	60	57	35	56	37	45	47	60	40	5,5	2,3
9. 1.	56	56	42	55	38	45	48	48	41	3,2	— 3,0
10. 1.	59	55	46	54	39	45	40	60	30	0,0	— 9,0
11. 1.	54	52	44	51	34	33	34	60	20	— 1,4	— 9,0
12. 1.	48	50	48	40	28	30	32	45	20	— 0,7	— 4,2
13. 1.	45	48	47	39	28	31	34	48	25	1,5	— 2,2

welche eine ca. 20 cm dicke Düngerschicht gebreitet und mit den Dunggabeln angeschlagen wurde. Der Haufen erstreckte sich der Länge nach von Norden nach Süden. Am selben Tage wurden in diesen Haufen 4 Hülsenthermometer von 25 cm, 50 cm, 75 cm und 100 cm Länge versenkt; diese waren vorher in der schon angegebenen Weise mit zugeschmolzenen Glasröhrchen versehen worden, welche die nachstehenden Bouillonkulturen enthielten: Milzbrand- und Rotlaufbazillen, die Streptokokken der Druse, sowie die Erreger der Geflügelcholera, Wild- und Rinderseuche, Kälberruhr und Tuberkulose (Typus bovinus).

Die an den Thermometern verzeichneten Temperaturen wurden vom 27. 12. ab täglich bis zu dem am 13. 1 erfolgten Abbruch des Haufens verzeichnet.

Zugleich wurden mit diesen Hülsenthermometern fünf etwa 25 cm lange Maximalthermometer, die als Nr. 1, 2, 3, 4, 5 bezeichnet sind, bis 5 cm tief in den Haufen gesteckt zwecks Beobachtung der an der Oberfläche des zu desinfizierenden Düngerhaufens herrschenden Temperatur und zwar Nr. 1 etwa in die Mitte der Ostseite, Nr. 2 im oberen Drittel der Nordseite und Nr. 3 im unteren Drittel der Westseite. Die beiden anderen wurden von der Oberfläche aus bis 5 cm tief versenkt und zwar Nr. 4 von der Mitte und Nr. 5 vom Südende aus. Die näheren Angaben sind in den nun folgenden Tabellen ersichtlich.

	Milzbrand-bazillen	Rotlauf	Geflügel-cholera	Kälberruhr	Wild- und Rinder-seuche	Tuberkulose Typus bovinus	Druse
				Agar-Platten-Kultur.			
25 cm Tiefe	—	—	—	—	—		—
50 „ „	—	—	—	—	—		—
75 „ „	+	—	—	—	—		—
100 „ „	—	—	—	—	—		—
Kontrolle	+	+	+	+	+		+
				Tier-Versuch.			
25 cm Tiefe	—	—	—	—	—	—	—
50 „ „	—	—	—	—	—	—	—
75 „ „	+	—	—	—	—	—	—
100 „ „	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	+	+	+	+	+	+	—

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Nieder-schlags in mm	Vor-herrschende Wind-richtung	Wind-stärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
756,8	755,0	754,6	86	84	90	—	O.	3
753,8	755,6	754,4	92	90	88	0,6	O.	3
755,2	756,8	759,5	83	81	88	—	O.	2
761,6	761,8	762,2	89	84	86	—	O.	3
761,2	759,6	759,5	69	77	77	—	O.	4
761,8	764,2	767,9	88	82	84	—	ONO.	3
770,6	771,9	771,8	82	78	85	—	O.	1
769,8	768,0	765,1	89	69	58	—	W.	1
760,5	760,4	763,0	74	92	100	—	W.	3
765,0	765,6	766,3	98	90	83	0,2	W.	3
765,2	760,2	750,2	82	85	73	—	SSW.	3
745,6	747,8	748,6	93	94	97	1,2	WSW.	3
743,1	738,2	736,6	93	91	89	0,2	S.	3
734,0	735,6	742,9	88	94	85	1,4	NO.	3
752,6	758,0	761,7	90	77	75	5,0	NNW.	3
763,2	764,8	767,0	87	86	80	1,2	WNW.	4
766,6	766,4	767,0	87	84	92	—	W.	2
767,6	768,9	769,0	82	89	82	—	W.	1

Die in 25 cm bezw. 50 cm Tiefe stehenden Hülsenthermometer zeigten ihre Höchsttemperatur nach 5 Tagen mit 73° bezw. 71° und sanken langsam innerhalb von 12 bezw. 11 Tagen auf die Temperatur von 60° herab. Die beiden andern Hülsenthermometer von 75 cm bezw. 100 cm Länge erreichten nach 6 Tagen das Maximum ihrer Temperatur mit 60° bezw. 70°. Während aber das Thermometer von 75 cm Länge nur etwa 1 Tag 60° zeigte, fiel das 1 m Thermometer innerhalb von 9 Tagen langsam von 70° auf 60°.

Von den kleinen Maximalthermometern erreichten die drei von den Seitenflächen aus versenkten am 5. bezw. 4. Tage das Maximum mit 45° und 55° bezw. 56°, während Nr. 4, das wohl den günstigsten Platz in bezug auf Erwärmung hatte, am 4. Tag die Höchsttemperatur von 67° zeigte und dann innerhalb von 11 Tagen auf 60° fiel.

Das Thermometer Nr. 5 wies nur am 3. Tage eine hohe Temperatur und zugleich das Maximum mit 67° auf. Dieser Haufen zeigte im allgemeinen in allen Schichten eine hohe Temperatur und behielt letztere auch im allgemeinen lange. In der Herstellung unterschieden sich beide Haufen in Versuch 1 und 2 wesentlich dadurch, daß der zu desinfizierende Dünger vollständig in 20 cm dicker Schicht von anderem Dünger bedeckt war. Diese Schutzschicht hat eine höhere Temperatur in den äußeren Düngerschichten bedingt. In der Zeit vom 23. 12. bis zum 13. 1., also in 21 Tagen, war der Haufen von 1,10 m auf 85 cm Höhe herabgesunken, sodaß das Hülsenthermometer von 1 m Länge noch 15 cm unterhalb der Marke aus dem Haufen am Schluß des Versuchs hervorragte. Beim Abbruch zeigten die äußeren Schichten, bis ca. 15 cm von den Außenflächen entfernt, bleiche Strohhalme und strohigen Mist. Sonst war durchweg eine gute und fast gleichmäßige Verrottung des Düngers nachzuweisen.

Die in den zugeschmolzenen Glasröhrchen enthaltenen Bouillonkulturen wurden am 13. 1. zunächst bis auf den Erreger der Tuberkulose auf Agarplatten verimpft. Alsdann erhielten Versuchstiere die noch gebliebene Bakterienflüssigkeit eingespritzt und zwar Kaninchen subkutan die der Wild- und Rinderseuche, Hühner intramuskulär die der Geflügelcholera und Meerschweinchen die der Tuberkulose (Typus bovinus). Weiße Mäuse wurden mit je 5 Ösen subkutan geimpft von den Bouillonkulturen: Milzbrand, Rotlauf und Kälberruhr. Mit Ausnahme der Agarplatte, die mit Milzbrandbazillenkultur aus 75 cm Tiefe besät war und auf der Milzbrandkolonien

Datum	Hülsenthermometer					Maximalthermometer in C°			Luftdruck in mm		
	25 cm	50 cm	50 cm	75 cm	100 cm	1	2	3	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr
8. 2.	43	45	55	52	58	21	39	9	759,3	754,1	752,5
9. 2.	65	67	60	67	65	35	51	15	751,6	754,3	758,4
10. 2.	73	63	75	68	50	37	63	39	764,1	766,2	769,4
11. 2.	70	65	70	63	50	40	59	26	769,1	766,8	763,9
12. 2.	73	70	73	72	58	39	54	38	762,7	763,8	765,8
13. 2.	72	66	71	67	56	38	51	46	765,8	765,8	766,3
14. 2.	62	55	61	57	41	43	48	49	764,8	772,9	763,4
15. 2.	52	50	53	47	43	39	47	44	764,0	761,6	757,1
16. 2.	47	46	48	43	40	34	41	39	748,5	752,6	755,4
17. 2.	63	53	62	54	45	32	43	36	755,6	756,4	752,5
18. 2.	42	45	50	47	42	33	38	35	742,2	738,1	739,8
19. 2.	53	44	52	45	40	29	33	35	739,4	742,6	745,0
20. 2.	55	44	53	47	42	25	31	31	746,4	749,9	752,2
21. 2.	51	43	50	45	42	16	26	27	747,7	749,0	751,8
22. 2.	47	40	45	42	40	11	24	23	748,9	750,7	746,7
23. 2.	50	41	48	43	40	9	18	17	741,6	743,9	745,0
24. 2.	45	40	46	43	39	15	16	8	741,7	742,3	744,2
25. 2.	41	35	40	41	33	17	13	6	745,6	746,0	748,0
26. 2.	31	31	32	36	30	12	15	10	752,2	754,7	755,7
27. 2.	27	29	28	30	29	13	9	11	750,5	747,7	746,7
28. 2.	26	30	28	27	28	18	8	10	743,1	742,1	739,7

gewachsen waren, blieben alle übrigen Agarplatten steril. Analog verhielt sich der Tierversuch. Die mit Milzbrandkultur aus Tiefe 75 cm infizierte Maus verendete nach 2 Tagen und wies im Herzblut bei der mikroskopischen Untersuchung zahlreiche Milzbrandstäbchen auf. Die übrigen Versuchstiere blieben noch 10 Tage am Leben. Die mit den in allen Tiefenlagen gehaltenen Erregern der Tuberkulose (Typus bovinus) geimpften Meerschweinchen wurden nach 10 Wochen getötet, bei der Obduktion erwiesen sie sich sämtlich frei von tuberkulösen Veränderungen. Ferner wurden aus den Originalkulturen, die bei Zimmertemperatur im Schrank gestanden hatten, zur Kontrolle Agarplatten besät und ferner Versuchstiere in entsprechender Weise infiziert. Die Kontrollplatten, welche einen Tag bei 37° gestanden hatten, zeigten nur Reinkulturen der betreffenden Infektionserreger. Die Kontrollmäuse, die mit Bakterien des Milzbrands, der Kälberruhr und der Druse geimpft waren, starben am 2. Tage, die Rotlaufkontrollmaus nach 4 Tagen. Das Kontrollkaninchen für die Wild- und Rinderseuche, wie der Kontrollhahn für die Geflügelcholera am 4. Tage. Aus dem Herzblut sämtlicher Kontrolltiere ließen sich mit Sicherheit bei mikroskopischer Betrachtung, wie auch kulturell die betreffenden Infektionserreger nachweisen. Das Kontrollmeerschweinchen verendete am 10. 3., also nach 8 Wochen, und zeigte bei der Obduktion eine generalisierte Tuberkulose; vornehmlich waren die Lymphdrüsen der Kniefalten, ferner die Milz, Leber und die Lungen Sitz hochgradiger tuberkulöser Prozesse.

Aus dieser Versuchsanordnung geht hervor, daß bei Anwendung einer 20 cm dicken Isolierlage zwischen Erdboden und Dunghaufen und ferner bei völliger Eindeckung des zu desinfizierenden Dunghaufens durch Nichtseuchendünger in ca. 20 cm hoher Schicht, an der Oberfläche wie in allen Tiefenlagen des zu desinfizierenden Dunghaufens Wärmegrade erzielt werden, bei welchen in der Regel alle tierpathogenen Erreger zugrunde gehen. In diesem Fall wurden selbst die Milzbrandbazillen, bis auf die bei 75 cm Tiefe gehaltene Kultur, abgetötet.

3. Versuch (3a). Am 7. 2. 08 wurde in Dachform ein Haufen aus 1—7 Tage altem Stalldung aufgerichtet, der von Rindern, Eseln, Schweinen, Schafen, Ziegen und Pferden herrührte. Eine rechteckige Grundfläche von 6 Quadratmetern (4 m lang, 1,5 m breit) wurde am Erdboden abgesteckt mit Streustroh belegt, das etwas festgetreten wurde. Diese Isolierlage war ca. 10 cm

Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Lufttemperatur in C°		Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			Max.	Min.	
95	80	76	1,6	W.	6,4	1,1	6
63	55	63	—	WNW.	4,8	1,0	4
89	41	55	0,0	NW.	2,8	— 2,9	3
91	86	84	—	WSW.	4,0	— 2,4	3
87	88	96	0,2	WSW.—WNW.	6,6	3,6	3
96	82	93	0,2	W.	7,5	4,0	2
94	60	82	0,1	SO.—WSW.	9,4	3,6	3
94	62	79	1,8	SW.	9,2	4,4	4
88	65	79	2,1	W.	5,5	3,5	4
87	64	70	0,6	WNW.—OSO.	5,1	2,9	3
92	90	90	0,7	WSW.	6,0	1,6	3
96	80	80	11,2	W.	5,2	1,5	4
85	51	81	0,6	WNW.	6,6	1,4	4
94	76	80	0,6	WNW.	8,4	2,8	4
86	60	76	4,6	WNW.—SSW.	7,5	5,1	4
85	86	91	5,0	W.	6,2	2,6	2
92	68	86	3,2	WSW.	6,6	1,9	3
94	66	93	0,8	NW.	5,0	— 0,6	2
96	89	79	—	W.	0,8	— 2,2	3
95	84	85	0,4	SSW.	5,9	0,8	4
91	71	87	7,3	SSW.	5,2	1,9	4

dick. Alsdann wurde der Stalldünger schichtweise aufgepackt und leicht angetreten, bis der Rücken des dachförmigen Haufens 1,10 m vom Erdboden entfernt war. Zum Eindecken kam nicht mehr Stroh zur Verwendung, sondern der Misthaufen wurde direkt mit Erde beworfen, bis die Deckschicht etwa 10 cm dick war. Nachher betrug die Höhe des eingedeckten Haufens 1,20 m.

Zur Temperaturmessung an der Dungoberfläche dienten 3 Maximalthermometer, für die Tiefenlagen 5 Hülsenthermometer, die senkrecht von der Firstlinie aus in die Tiefe gesteckt wurden. Ihre Längenmaße waren je 1 zu 25 cm, 75 cm und 1 m, ferner 2 zu 50 cm.

Die Höchsttemperaturen zeigten sich innerhalb von 3—8 Tagen. Ein zweiter Anstieg fand bei allen 5 Thermometern nach 11 Tagen statt. Das Maximum stand bei dem in 25 cm Tiefe gehaltenen Thermometer 3 Tage lang auf 73° und zwar vom 4.—6. Tage ab, am 11. Tage erreichte es nochmals 63°. Während 7 Tagen herrschte eine Temperatur von 62° bis 73°. Die beiden bei 50 cm stehenden Thermometer zeigten am 6. bezw. 4. Tage ihr Maximum an mit 70° bezw. 75°. Bei dem ersten waren 5 Tage lang 62° bis 70°, beim zweiten 7 Tage lang 60° bis 75°.

Das bei 75 cm Tiefe stehende Thermometer erreichte die Höchsttemperatur am 6. Tage mit 72°; während 5 Tagen zeigte es 63°—72°.

Bei dem 1 m tief gehaltenen Thermometer trat das Maximum am 3. Tage ein mit 65°. Während 4 Tagen konnten an dieser Stelle Temperaturen zwischen 56° und 65° nachgewiesen werden.

Von den 3 Maximalthermometern gaben Nr. 1 und Nr. 3 ihre Höchsttemperaturen mit

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer			Lufttemperatur in C°	
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	1	2	3	Max.	Min.
18. 2.	41	43	41	36	37	24	43	6,0	1,6
19. 2.	71	67	67	60	37	43	42	5,2	1,5
20. 2.	74	73	68	53	50	44	32	6,6	1,4
21. 2.	70	72	78	55	60	35	46	8,4	2,8
22. 2.	63	66	60	51	62	45	50	7,5	5,1
23. 2.	51	65	65	57	63	47	49	6,2	2,6
24. 2.	53	50	59	50	56	36	43	6,2	1.9
25. 2.	51	49	53	48	51	37	45	5,0	— 0,6
26. 2.	48	43	44	46	30	25	25	0,8	— 2.1
27. 2.	35	41	38	38	28	27	26	4,8	0,6
28. 2.	35	43	41	41	34	30	24	5,2	1.9
29. 2.	33	41	35	35	32	28	35	4,9	0,4
1. 3.	32	42	35	30	32	29	19	4,5	— 0.9
2. 3.	28	40	32	32	30	20	28	7,4	— 0.4
3. 3.	37	42	40	30	22	17	27	4,5	0.1
4. 3.	28	40	34	29	18	13	16	2.3	0,5
5. 3.	31	36	32	26	17	11	12	6,1	1,9
6. 3.	29	38	33	27	26	16	18	7.7	0,7
7. 3.	27	33	30	31	31	24	25	11.0	2,0

Als Maximum der Temperatur wurden also am 4. Tage in der Tiefe von 25 cm bezw. 50 cm gemessen 74° bezw. 73°. In der Tiefe von 25 cm waren 3 Tage lang 70—74°, bei 50 cm stand das Thermometer 5 Tage lang zwischen 65° und 73°. Die Höchsttemperatur bei 75 cm Tiefe betrug am 5. Tage 78°, es herrschte hier während 5 Tagen eine Wärme von 60° bis 78°. In der Tiefe von 100 cm wurde das Maximum mit 60° am 3. Tage gemessen; ferner waren 3 Tage 55°—60°.

Von den Maximalthermometern, welche mit ihren Quecksilberkugeln gerade in den Stall-

43° und 49° am 8. Tage an. Dagegen zeigte Nr. 2 vom 3.—8. Tage eine Temperatur zwischen 51° und 63°. Das Maximum wurde am 4. Tage erzielt.

Wenn auch bei dieser Versuchsanordnung und besonders bei der guten Qualität des 1—8 Tage alten Stallmistes in allen Tiefenlagen von den Hülsenthermometern Temperaturen angegeben wurden, die zur Abtötung der fraglichen Infektionserreger genügen, so zeigten doch zwei Maximalthermometer an der Dungoberfläche nur Temperaturen von 43° bezw. 49°, welche den beabsichtigten Zweck, infektiöse Keime abzutöten, nicht erfüllen würden.

3. Versuch (3b). Am 17. 2. 08 wurde ein Haufen in Dachform aus 1—7 Tage altem Stallmist aufgebaut, der von Rindern, Eseln, Schweinen, Schafen, Ziegen und Pferden stammte. Nachdem auf dem Erdboden ein Rechteck von 6 Quadratmetern (4 m lang, 1,5 m breit) abgesteckt war, wurde diese Fläche mit Streustroh belegt, das angetreten wurde und eine Unterlage von ca. 10 cm Dicke bildete. Der Stalldung wurde darüber schichtweise gepackt und ebenfalls in Intervallen leicht festgetreten. Hierauf folgte ein Eindecken des Haufens mit Erde und zwar in ca. 10 cm dicker Lage. Die Höhe dieser Düngermiete betrug 1,25 m. Die Temperatur wurde in den Tiefen 25 cm, 50 cm, 75 cm und 1 m durch Hülsenthermometer während 18 Tagen festgestellt; während 3 etwa 25 cm lange Maximalthermometer zum Nachweis der Temperatur dienten, die im Mist unmittelbar unter der Erddecke herrschte. Der Dunghaufen erstreckte sich der Länge nach von Osten nach Westen. Maximalthermometer Nr. 1, Nr. 2 und Nr. 3 erhielten ihre Plätze in der Mitte der Süd-, Ost- und Nordseite.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Nieder-schlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Wind-stärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 7 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
742,2	738,1	739,8	92	90	90	0,7	WSW.	3
739,4	742,6	745,0	96	80	80	11,2	W.	4
746,4	749,9	752,2	85	51	81	0,6	WNW.	4
747,7	749,0	751,8	94	76	80	0,6	WNW.	4
748,9	750,7	746,7	86	60	76	4,6	WNW.—SSW.	4
741,6	743,9	745,0	85	86	91	5,0	W.	2
741,7	742,3	744,2	92	68	86	3,2	WSW.	3
745,6	746,0	748,0	94	66	93	0,8	NW.	2
752,2	754,7	755,7	96	89	79	—	W.	3
750,5	747,7	746,7	95	84	85	0,4	SSW.	4
743,1	742,1	739,7	91	71	87	7,3	SSW.	4
737,3	740,4	741,3	95	59	74	10,2	S.	3
740,2	742,4	746,2	88	66	84	—	SW.	3
749,8	750,8	752,0	80	36	74	—	SO.	3
753,7	753,0	753,4	91	71	87	—	O.	4
754,6	756,6	757,8	93	86	85	5,8	SO.	2
755,3	756,2	757,6	92	67	86	3,1	SW.	3
758,4	755,6	753,0	90	47	75	0,4	SSO.	4
750,9	752,0	753,9	74	52	76	—	S.	3

mist hineinreichten, zeigte Nr. 1 am 6. Tage das Maximum mit 63° an; es hatten an derselben Stelle 3 Tage lang Temperaturen von 60°—63° geherrscht. Nr. 2 erreichte am 7. Tage 47°. Ferner zeigte Nr. 3 4 Tage lang die Temperatur von 46—50°, das Maximum mit 50° wurde am 6. Tage erreicht.

Die Haufenhöhe betrug am 7. 3. 08 90 cm. Am 7. 3. 08 erfolgte der Abbruch dieses Haufens. In allen Schichten war eine fast gleichmäßig gute Verrottung zu konstatieren.

3. Versuch (3c). Am 25. 3. wird ein Haufen aus 1—8 Tage altem Stalldung von Pferden, Eseln, Rindern und Schweinen dachförmig errichtet auf einer rechteckigen Grundfläche von 12 Quadratmetern (6 m lang, 2 m breit), auf welche zunächst eine Streulage von 5—10 cm geschichtet wurde. Der leicht angetretene Dünger wird mit 5—10 cm dicker Erdschicht zugedeckt.

Datum	Hülsenthermometer				Lufttemperatur in C°		Luft
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Max.	Min.	morgens 7 Uhr
26. 3.	59	55	45	41	11,7	— 1,0	764,1
27. 3.	61	71	68	52	13,1	— 0,6	766,2
28. 3.	65	67	60	46	15,6	1,8	762,5
29. 3.	63	61	58	47	16,2	3,6	762,7
30. 3.	60	55	52	48	13,8	5,4	757,7
31. 3.	61	54	53	47	10,5	4,8	750,4
1. 4.	60	54	54	46	7,0	2,6	747,6
2. 4.	48	52	50	39	9,9	2,1	755,5
3. 4.	35	47	45	36	8,5	1,7	756,6
4. 4.	37	42	43	34	11,4	4,9	751,8
5. 4.	32	40	39	32	9,2	2,5	753,5

Die Temperaturmaxima wurden somit am 3. Versuchstage in den Tiefen von 50, 75 und 100 cm erreicht mit 71°, 68° und 52°. In Tiefe von 25 cm wird am 4. Tage die Höchsttemperatur mit 65° gemessen und es hat hier 7 Tage lang eine Temperatur zwischen 59° und 65° geherrscht. In Tiefe von 50 cm stieg das Thermometer von 55° auf 71° und fiel wieder auf 55° innerhalb von 5 Tagen. Bei Tiefe von 75 cm waren 3 Tage lang 58°—68°. In 1 m Tiefe herrschte 6 Tage lang eine Temperatur von 46°—52°.

4. Versuch (4a). Am 6. 1. 08 wird ein Versuchshaufen aus 1—4 Tage altem Stallmist errichtet, der von Rindern, Eseln, Schafen, Ziegen, Pferden und Schweinen herrührt. Auf einer rechteckigen Grundfläche des Erdbodens von 4,5 Quadratmetern (3 m lang, 1,5 m breit) wurde

Datum	Hülsenthermometer				Lufttemperatur in C°		Luft
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Max.	Min.	morgens 7 Uhr
7. 1.	43	54	53	27	5,5	— 0,8	745,6
8. 1.	70	75	66	44	5,5	2,3	743,1
9. 1.	71	73	68	54	3,2	— 3,0	734,0
10. 1.	70	65	60	52	0,0	— 9,3	752,6
11. 1.	70	55	53	52	— 1,4	— 9,0	763,2
12. 1.	68	48	48	45	— 0,7	— 4,2	766,6
13. 1.	62	43	46	46	1,5	— 2,2	767,6
14. 1.	54	36	38	34	2,5	— 5,1	767,6
15. 1.	46	32	36	30	2,4	— 6,6	766,4
16. 1.	44	39	32	27	4,4	— 1,6	762,8
17. 1.	40	21	30	21	6,5	2,9	758,4
18. 1.	39	25	30	23	7,3	3,3	761,4
19. 1.	41	20	30	25	5,0	— 0,5	766,7
20. 1.	30	25	29	23	0,9	— 1,8	763,1
21. 1.	40	26	31	23	2,0	0,4	770,4
22. 1.	32	24	30	22	1,1	— 0,9	766,8

Die Höchsttemperatur erreichten die in 25, 75 und 100 cm Tiefe stehenden Thermometer am 3. Tage mit 71°, 68° und 54°. Das bei 50 cm Tiefe stehende Thermometer zeigte schon am 2. Tage das Maximum mit 75°.

Die Haufenhöhe beträgt danach 1,25 m. Von der Rückenlinie aus werden senkrecht 4 Hülsenthermometer bis zur Tiefe von 25, 50, 75 und 100 cm in den Haufen hineingesteckt. Die Temperatur wird 11 Tage lang notiert.

Die vor Abbruch des Haufens am 6. 4. ermittelte Höhe beträgt 75 cm.

druck in mm		Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
762,9	764,2	74	35	44	—	O.	3
764,7	763,8	70	31	43	—	O.	3
762,2	761,2	76	30	46	—	SO.	4
761,7	760,4	72	32	70	—	S.	2
756,4	756,1	78	41	82	0,0	SW.	4
750,4	748,1	83	91	79	2,2	SW.	4
748,0	750,1	81	88	84	4,0	WSW.—NNW.	3
757,7	759,6	86	80	82	4,7	SW.	3
754,1	752,2	78	89	93	1,2	S.	3
751,4	756,8	90	58	79	1,6	SW.	2
752,8	754,6	88	62	71	0,5	S.	2

eine Isolierschicht von 20 cm Dicke aus strohigem Mist als Unterlage hergerichtet. Darauf wurde der Stalldünger dachförmig aufgeschichtet. Jedoch wurde in diesem Haufen bei der Schichtung der Dünger leicht angetreten. Die Entfernung der Firstlinie vom Erdboden betrug 1,10 m. Nachdem die Seitenwände und der Rücken des Haufens mit 10 cm dicker Langstrohschicht belegt waren, erhielt dieser noch eine Eindeckung durch eine etwa 10 cm dicke Erdschicht. Die Höhe betrug jetzt ca. 1,25 m. Auf diese Weise bekam der zugedeckte Düngerhaufen das Aussehen einer Kartoffel- oder Rübenmiete.

In diesen Haufen wurden 4 Hülsenthermometer von 25, 50, 75 und 100 cm Länge bis zur Marke versenkt und während 16 Tagen die Temperatur gemessen.

druck in mm		Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm 7 Uhr morgens	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
747,8	748,6	93	94	97	1,2	WSW.	3
738,2	736,6	93	91	89	0,2	S.	3
735,6	742,9	88	94	85	1,4	NO.	3
758,0	761,7	90	77	75	5,0	NNW.	3
764,8	767,0	87	86	80	1,2	WNW.	4
766,4	767,0	87	84	89	—	W.	2
768,4	769,0	82	89	82	—	W.	1
766,4	766,0	82	81	70	—	S.—W.	2
765,8	765,4	75	73	68	—	SW.	2
762,6	758,6	75	59	80	—	SW.	3
759,6	760,6	97	94	97	3,8	W.	3
762,8	764,4	86	91	82	0,3	W.	3
766,6	765,2	94	90	92	—	WNW.	3
763,6	766,7	94	96	92	—	W.	3
771,1	769,2	92	87	90	0,0	WNW.	3
766,5	768,6	85	89	89	—	WNW.	3

Bei dem 25 cm-Thermometer herrschte während 7 Tagen eine Temperatur von 54° bis 71°. In 50 cm Tiefe waren 5 Tage lang 54° bis 75°. Das bei 75 cm Tiefe stehende Thermometer zeigte 53°—68° innerhalb 5 Tagen und das 1 m tief gesenkte drei Tage lang 52°—54°.

Mit Ausnahme der Bodenschicht hatten also in diesem eingedeckten Haufen Temperaturen geherrscht, bei denen wohl die große Mehrzahl der in Betracht gezogenen tierischen Infektionserreger abgetötet werden.

Am 22. 1. war der Haufen 90 cm hoch, er war also um 20 cm in sich zusammengesunken.

Bei dem am 22. 1. 08 erfolgten Abbruch des Haufens sah der Mist in allen Schichten fast gleichmäßig gut verrottet aus.

Durch die umgebende Langstroh-Isolierschicht, wie besonders durch die Erdbedeckung konnte von der durch die Bakterien-Arbeit entstehenden Wärme nur sehr wenig verloren gehen.

Bei den folgenden Versuchen ist dieselbe Art der Eindeckung gewählt worden, die im praktischen Betriebe dem Arbeiter vom Einmieten der Knollengewächse her genügend bekannt ist und daher leicht ausgeführt werden kann. Es würde vielleicht auch ein Eindecken des Seuchendüngers mit nicht infiziertem Mist oder Stroh genügen, um die Wärmeabgabe an die Außenluft bezw. den Erdboden nach Möglichkeit einzuschränken. Doch erscheint mir der Zweck durch Erdeindeckung leichter erreichbar und eine Verschleppung von Infektionserregern weniger möglich.

Datum	Hülsenthermometer						Maximalthermometer					Lufttem- in
	25 cm	50 cm	50 cm	75 cm	100 cm	100 cm	1	2	3	4	5	Max.
14. 1.	47	69	35	51	7	23	9	30	30	23	41	2,5
15. 1.	40	65	72	63	12	52	56	66	50	50	67	2,4
16. 1.	60	60	70	61	20	35	40	70	59	51	72	4,4
17. 1.	55	65	54	55	29	35	51	68	46	27	65	6,5
18. 1.	46	43	46	53	34	40	55	62	43	41	61	7,3
19. 1.	37	52	40	46	32	48	44	64	45	32	—	5,0
20. 1.	29	35	47	47	15	31	43	63	45	35	—	0,9
21. 1.	21	38	42	40	43	30	44	54	36	25	—	2,0
22. 1.	25	31	27	32	43	28	37	55	20	22	—	1,1
23. 1.	23	28	32	31	41	30	19	42	19	13	—	2,4
24. 1.	20	24	27	32	35	25	12	33	16	3	—	1,5
25. 1.	17	21	24	26	33	19	9	33	13	2	—	−1,8
26. 1.	11	24	26	23	31	16	9	43	12	3	—	2,2
27. 1.	16	22	33	19	38	20	42	51	11	14	—	7,0

Die Höchsttemperatur zeigte sonach das 25 cm Hülsenthermometer am 4. Tage mit 60°. Die beiden in 50 cm Tiefe stehenden Thermometer erreichten 69° bezw. 72° und hielten eine Temperatur von 60°—69° 4 Tage lang beziehungsweise eine solche von 70°—72° 2 Tage lang. Das bei 75 cm Tiefe stehende Thermometer wies das Maximum mit 65° am 3. Tage auf und hielt sich 2 Tage lang zwischen 61° und 63°. Dagegen zeigten die beiden in 1 m Tiefe stehenden Thermometer am 9. bezw. 8. Tage ihre Höchsttemperatur nur mit 43° und 52°. Von den Maximalthermometern, welche die an der Mistoberfläche unter der schützenden Stroh- und Erddecke herrschenden Temperaturen angaben, wies das am Ostende versenkte am 6. Tage als Maximum 55° auf, während das in der Mitte der Firstlinie befindliche am 4. Tage bis auf 70° stieg und während 6 Tage eine Temperatur zwischen 62° und 70° anzeigte.

An der Nordseite und am Westende gaben No. 3 und No. 5 als Maximum 59° beziehungsweise 72° an, während in der Mitte der Südseite des Haufens am 4. Tage 51° herrschten. No. 4 zeigte 4 Tage lang eine Temperatur zwischen 61° und 72°; leider wurde es nach 6 Tagen defekt.

Während nun nach Angabe der Hülsenthermometer, die in 25 cm, 50 cm und 75 cm Tiefe standen, Temperaturen herrschten, die zur Abtötung der meisten in Betracht kommenden Infektionserreger ausreichten, dürfte dies bei den in 1 m Tiefe gehaltenen, also am Boden, nicht so sicher der Fall sein.

Die lockere Isolierschicht aus strohigem Mist wurde durch die Last des Haufens zusammengedrückt, sodaß der auf seine Temperatur zu untersuchende Mist in der untersten Schicht den Boden fast berührte und infolge der Wärmeabgabe an letzteren nicht derart hohe Temperaturen aufweisen konnte, wie in den anderen Schichten, welche nach außen besser abgeschlossen

4. Versuch (4b). Am 14. 1. 08 wurde ein Haufen aus 1—4 Tage altem Stallmist, der von Rindern, Eseln, Schweinen und Pferden herrührte, aufgeschichtet. Ein Rechteck von 9 Quadratmetern (6 m lang, 1,5 m breit) wurde auf dem gefrorenen Erdboden mit 10 cm hoher Lage von strohigem Mist locker bedeckt. Darauf folgten die Stallmistschichten, welche in gewissen Intervallen leicht angetreten wurden. Der Haufen erhielt wieder Dachform, wurde 10 cm dick mit Langstroh locker belegt und dann mit etwa ebenso starker Schicht von Erde eingedeckt, sodaß die Rückenlinie des Haufens 1,30 m vom Erdboden entfernt war. Der Haufen erstreckte sich der Länge nach von Westen nach Osten. In diesen Haufen wurden 6 Hülsenthermometer bis zur Marke versenkt und zwar je 1 zu 25 cm und 75 cm Länge, je 2 zu 50 cm und 100 cm Länge. Ferner fanden noch 5 Maximalthermometer von 25 cm Länge Verwendung zum Messen der Temperaturen in den oberflächlichen Mistschichten. Sie wurden derart durch die Erd- und Strohschicht gesteckt, daß sich die Quecksilberkugeln und deren Umgebung höchstens 5 cm tief im Mist befanden. No. 1 und 2 wurden am Ostende bezw. von der Mitte der Rückenlinie aus versenkt, No. 3 kam in die Mitte der Nordseite, No. 4 in die der Südseite und No. 5 erhielt in der Mitte der Westseite seinen Platz.

peratur C°	Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Nieder-schlags in mm	Vor-herrschende Wind-richtung	Windstärke
Min.	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
— 5,1	767,6	766,4	766,0	82	81	70	—	S.—W.	2
— 6,6	766,4	765,8	765,4	75	73	68	—	SW.	2
— 1,6	762,8	762,8	758,6	75	59	80	—	SW.	3
2,9	758,4	759,6	760,6	97	94	97	3,1	W.	3
3,3	761,4	762,8	764,4	86	91	82	0,3	W.	3
— 0,5	766,7	766,6	765,2	94	90	92	—	WNW.	3
— 1,8	763,1	763,6	766,7	92	96	92	—	W.	3
0,4	770,4	771,7	769,2	92	87	90	0,0	WNW.	3
— 0,9	766,8	766,5	768,6	85	89	96	—	WNW.	3
1,0	771,7	772,3	773,5	94	89	87	0,0	W.	2
— 2,9	772,6	771,5	771,0	92	89	96	—	S.—W.	2
— 5,3	768,2	766,4	764,9	98	86	100	—	SSW.—W.	2
— 4,3	763,7	761,4	753,3	84	93	94	—	WSW.	3
2,7	749,5	747,2	742,6	87	82	96	3,5	W.	4

waren. Es würde sich also empfehlen, die Boden-Isolierlage aus Stroh oder strohigem Mist in größerer Dicke aufzuschichten und fest anzutreten.

Die 5 Maximalthermometer zeigten die Temperaturmaxima am 5. bezw. 3. Tag mit 55°, 70°, 59°, 51° und 72° an.

Bei dieser Versuchsanordnung würden also auch in den obersten Lagen des Seuchendüngers die Mehrzahl der tierpathogenen Keime vernichtet sein. Dagegen war die auf den gefrorenen Erdboden gebrachte Isolierlage aus strohigem Mist nicht dick genug und zu locker, sodaß in den untersten Schichten des Seuchendüngers Wärmegrade gemessen wurden, durch welche Tierseuchenerreger nicht mit Sicherheit abgetötet werden.

4. Versuch (4c). Am 21. 1. 08 wird ein Haufen aus 1—6 Tage altem Stallmist, der von Rindern, Eseln, Pferden und Schweinen stammt, in Form eines Daches aufgeschichtet. Auf einer rechteckigen Grundfläche des Erdbodens von 6 Quadratmetern (4 m lang, 1,5 m breit) wird Streustroh und von Jauche durchfeuchteter strohiger Mist etwa 20 cm hoch aufgeschichtet und angetreten. Der auf diese Isolierschicht abgeladene Stalldünger wird in den einzelnen Schichten ebenfalls angetreten, schließlich mit Langstroh in etwa 10 cm dicker Lage zugedeckt und mit Erde beworfen (ca. 5 cm dick). Nachher ist der so eingemietete Düngerhaufen 1,15 m hoch. Drei Maximalthermometer für die Oberflächentemperatur und 4 Hülsenthermometer für die Tiefenlagen 25 cm, 50 cm, 75 cm und 100 cm werden am 21. 1. in den Haufen von der Mitte der Nord-, Ost- und Südseite aus fast wagerecht, bezw. von seiner Firstlinie aus senkrecht hineingesteckt. In der die Quecksilberkugel umgebenden Aushöhlung sind je 7 zugeschmolzene Glasröhrchen untergebracht, welche

in Bouillon die Erreger des Milzbrands und Rotlaufs, der Brustseuche, Schweineseuche, Geflügelcholera, Wild- und Rinderseuche und der Tuberkulose Typus bovinus enthalten. Sämtliche Bouillon-Röhrchen hatten nach der Beimpfung 1 Tag bei 37° im Brutschrank gestanden, und waren vor dem Zuschmelzen auf Reinheit geprüft worden.

Kulturversuch.

Erreger von	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Kontrolle
Rotlauf	—	—	—	—	+
Schweineseuche	—	—	—	—	+
Tuberkulose (Typ. bovinus)	nicht angelegt				—
Wild- und Rinderseuche	—	—	—	—	+
Brustseuche	—	—	—	—	+
Milzbrandbazillen	+	+	—	—	+
Tierversuch.					
Rotlauf	—	—	—	—	+
Schweineseuche	—	—	—	—	+
Tuberkulose (Typ. bovinus)	—	—	—	—	+
Wild- und Rinderseuche	—	—	—	—	+
Brustseuche	—	—	—	-	+
Milzbrandbazillen	+	—	—	—	+

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer			Lufttemperatur in C°	
	25 cm	50 cm	77 cm	100 cm	1	2	3	Max.	Min.
22. 1.	37	39	40	45	38	47	20	1,1	— 0,9
23. 1.	49	49	50	53	45	60	36	2,4	1,0
24. 1.	54	56	59	65	50	43	32	1,5	— 2,9
25. 1.	48	59	62	61	51	46	44	— 1,8	— 5,3
26. 1.	55	57	61	59	50	45	42	2,2	— 4,3
27. 1.	27	56	61	62	53	63	53	7,0	2,7
28. 1.	15	55	60	58	51	61	54	8,0	2,3
29. 1.	37	53	58	57	52	50	38	3,8	0,6
30. 1.	40	48	54	54	55	44	36	4,6	1,3
31. 1.	36	45	52	50	38	37	41	3,0	1,0
1. 2.	35	45	49	51	35	36	37	3,0	— 0,4
2. 2.	32	42	47	48	36	33	33	0,0	— 2,2
3. 2.	28	39	42	43	36	34	30	0,0	— 2,5
4. 2.	22	35	38	39	33	29	29	— 1,6	— 3,2
5. 2.	19	37	38	35	37	28	30	1,5	— 3,1
6. 2.	18	30	32	33	35	26	21	3,4	— 0,8
7. 2.	18	31	31	34	36	27	19	4,5	0,2

Hiernach war das Ergebnis beim Agarplattenverfahren wie bei der Impfung von passenden Versuchstieren für Kulturen aller 4 Tiefenlagen negativ bei Rotlauf, Schweineseuche, Wild- und Rinderseuche und Brustseuche. Ebenso zeigten alle 4 mit Tuberkelbazillenaufschwemmung aus allen Tiefenlagen geimpften Meerschweinchen 3 Monate nach erfolgter Impfung bei der Obduktion keine tuberkulösen Veränderungen. Dagegen war die Milzbrandbouillon aus den Tiefen 25 und 50 cm noch lebensfähig und virulent. Auf den Agarplatten wuchsen Milzbrandkolonien in mittlerer Menge und die beiden Impfmäuse verendeten am 2. Tage.

Auf sämtlichen Kontroll-Agar-Platten wuchsen die betreffenden Erreger in Reinkultur; von den Kontrolltieren verendeten die mit den Erregern des Milz

Die Maximal-Temperaturen wurden von dem bei 25 cm Tiefe gehaltenen Thermometer am 4. und 6. Tage mit 54° und 55° angegeben. Das bei 50 cm Tiefe zeigte 8 Tage lang eine Temperatur zwischen 48° und 59°; das Maximum wurde am 5. Tage erreicht. Bei 75 cm Tiefe bestand 10 Tage lang eine Temperatur von 49° bis 62°, davon 4 Tage lang 60° bis 62°. Das Maximum ergab sich am 5. Tage. In der Tiefe von 1 m war am 4. Tage die Höchsttemperatur 65° und während 10 Tage herrschten 50°—65°. Im Vergleich mit den bei 50, 75 und 100 cm Tiefe erzielten Temperaturen fällt das bei 25 cm gehaltene Thermometer etwas ab. Da die Qualität des Düngers in allen Lagen als eine gleich gute bezeichnet werden konnte, und die aus dem Haufen emporsteigende Wärme doch eigentlich in der obersten Schicht am besten zum Nachweis kommen mußte, so glaube ich die Erklärung nur darin zu finden, daß der Rücken des Haufens zunächst den kalten Winden am meisten ausgesetzt ist, und die Erdeindeckung gerade hier oben die geringste Dicke hatte.

Von den 3 Maximalthermometern gab No. 1 die Höchsttemperatur am 11. Tage mit 55° an, es herrschte hier aber 7 Tage lang 50—55°. No. 2 zeigt das Maximum am 7. Tage mit 63°, nachdem es schon am 3. Tage auf 60° gestanden hatte. Dagegen stand No. 3 auf 53° und 54° am 6. und 7. Tage.

Am 7. 2. wurde der Haufen umgebrochen. Abgesehen von einer kleinen Menge dunkelbraunen, kurzen, saftigen Mistes in den oberen Lagen des Haufens, war sonst durchweg eine gute Verrottung zu konstatieren.

Das Ergebnis der Abtötungsversuche ist aus den folgenden Tabellen ersichtlich.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
766,8	766,5	768,6	85	89	96	—	WNW.	3
771,7	772,3	773,5	94	89	87	0,0	W.	2
772,6	771,5	771,0	92	89	96	—	S.—W.	2
768,2	766,4	764,9	98	86	100	—	SSW. zu W.	2
763,7	761,4	758,3	84	93	94	—	WSW.	3
749,5	745,2	742,6	87	82	96	3,5	W.	4
741,6	740,4	740,1	76	91	86	5,5	W.	5
735,4	742,4	746,0	96	83	85	9,8	W.	4
751,4	753,4	754,0	84	73	84	2,9	WSW.	3
750,1	746,5	741,4	77	80	87	0,1	SW.	4
738,9	738,4	743,5	83	66	76	1,1	W.	4
751,8	757,8	761,6	84	71	88	0,2	N.	3
762,4	760,4	758,0	86	66	75	—	NW.—SW.	3
755,8	755,1	762,0	80	89	91	—	WSW.—NNW.	3
766,6	768,6	768,9	92	87	82	0,7	NNW.—W.	3
766,3	766,8	762,9	91	94	88	—	W.	4
761,4	764,9	766,8	54	43	65	—	NNW.—W.	5

brand, der Brustseuche und der Wild- und Rinderseuche geimpften Mäuse am 2. Tag. Die mit Schweineseuche geimpfte Maus verendete am 3. Tage, und die mit Rotlauf am 4. Tage. Das Kontrollmeerschweinchen verendete am 3. 4. und wies bei der Obduktion eine generalisierte Tuberkulose auf.

4. Versuch (4d). Am 28. 1. 08 wird Versuchshaufen b aus 1—7 Tage altem Stallmist aufgeschichtet, der von Rindern, Eseln, Pferden, Schafen, Ziegen und Schweinen stammt. Eine rechteckige Grundfläche des Erdbodens von 9 Quadratmetern (6 m lang und 1,5 m breit) wird mit jauchiger Streu und Stroh bedeckt und letztere fest angetreten, bis diese Isolierlage eine Dicke von 20 cm behält. Alsdann wird der Stalldünger aufgeschichtet, hierbei öfter angetreten und eine dachförmige Miete hergerichtet. Alsdann wird der Haufen locker ca. 5—10 cm dick

mit Streustroh belegt und mit Erde beworfen, sodaß die Dicke der Schutzschichten etwa 10 cm im Durchschnitt beträgt. Die Entfernung der Rückenlinie vom Erdboden ist 1,25 m. Der Haufen erstreckt sich in seiner Länge von Norden nach Süden.

Von dem Rücken des Haufens aus wurden bis zur Marke 8 Hülsenthermometer versenkt und zwar je 2 zu 25 cm, 50 cm, 75 cm und 100 cm Tiefe. Ferner dienen zur Messung der an der Mistoberfläche unter der Strohschicht herrschenden Temperatur 4 Maximalthermometer von 25 cm Länge, welche, wie früher schon angegeben ist, mit ihren Quecksilberkugeln und deren

Datum	Hülsenthermometer								Maximalthermometer				Lufttemperatur in C°	
	25 cm	25 cm	50 cm	50 cm	75 cm	75 cm	100 cm	100 cm	1	2	3	4	Max.	Min.
29. 1.	25	27	19	28	30	20	33	21	10	52	11	7	3,8	0,6
30. 1.	55	70	45	43	62	35	64	45	10	35	54	25	4,6	1,3
31. 1.	56	54	64	47	48	47	57	52	35	45	45	20	3,0	1,0
1. 2.	57	61	48	48	64	50	60	54	45	54	53	11	3,0	— 0,4
2. 2.	64	55	47	50	61	53	60	57	47	56	29	55	0,0	— 2,1
3. 2.	57	49	43	49	50	47	50	52	45	56	26	22	0,0	— 2,5
4. 2.	49	45	39	44	44	43	45	47	35	42	47	15	— 1,6	— 5,2
5. 2.	43	41	36	39	38	39	39	42	35	43	17	19	1,5	— 3,1
6. 2.	45	42	36	36	45	40	40	45	30	37	26	16	3,4	— 0,1
7. 2.	59	55	43	41	58	62	56	61	31	43	20	23	4,5	— 0,2
8. 2.	62	47	49	50	66	65	59	48	35	47	20	20	6,4	1,1
9. 2.	70	53	60	65	65	70	65	50	55	40	30	50	4,8	1,0
10. 2.	65	58	59	59	58	61	58	63	46	57	33	53	2,8	— 2,9
11. 2.	66	50	52	54	50	54	56	48	48	55	33	31	4,0	— 2,4
12. 2.	59	50	55	54	55	64	54	58	45	57	34	20	6,6	3,6
13. 2.	54	45	53	49	54	55	50	56	46	45	33	27	7,5	4,5
14. 2.	45	39	43	42	42	46	40	47	38	43	28	25	9,4	3,9
15. 2.	40	37	37	36	37	40	44	40	37	43	22	20	9,2	4,4
16. 2.	42	40	38	36	42	38	39	44	37	42	22	21	5,4	3,5
17. 2.	51	55	48	45	27	53	50	50	38	45	24	17	5,1	2,9
18. 2.	—	45	—	40	—	43	—	45	—	—	—	—	6,0	1,6
19. 2.	—	48	—	43	—	42	—	44	—	—	—	—	5,2	1,5
20. 2.	—	47	—	50	—	48	—	53	—	—	—	—	6,6	1,4
21. 2.	—	44	—	42	—	48	—	47	—	—	—	—	8,4	5,1
22. 2.	—	42	—	41	—	47	—	45	—	—	—	—	7,9	2,8
23. 2.	—	39	—	42	—	46	—	41	—	—	—	—	6,2	2,6
24. 2.	—	36	—	37	—	40	—	36	—	—	—	—	6,2	1,9
25. 2.	—	30	—	32	—	38	—	29	—	—	—	—	5,0	— 0.6
26. 2.	—	26	—	26	—	29	—	25	—	—	—	—	0,8	2,1
27. 2.	—	24	—	28	—	24	—	24	—	—	—	—	4,8	0.6

Sehr bemerkenswert war bei diesem Versuch der Temperaturmessung, daß bei allen 12 Thermometern ein dreimaliges Ansteigen der Temperatur innerhalb von 20 Tagen in ziemlich gleichen Intervallen von einer Woche etwa stattfand.

Die Höchsttemperaturen wurden in der ersten Woche erreicht von den bei 25 cm Stehenden mit 64° und 70° nach 6 bezw. 3 Tagen; am Ende der zweiten Woche mit 70° nach 13 bezw. 14 Tagen und am Ende der dritten Woche mit 51° und 55° nach 21 Tagen. Die bei 50 cm Tiefe stehenden Hülsenthermometer zeigten nach 4 bezw. 6 Tagen 64° und 50°, beide wiesen nach 13 Tagen 60° bezw. 65° auf, am 21. Tage hatten beide noch einen leichten Aufstieg bis auf 48° bezw. 45°; das zweite stieg nach 24 Tagen noch bis 50°, um dann ganz abzufallen.

Die beiden bei 75 cm Tiefe gehaltenen Thermometer standen nach 5 bezw. 6 Tagen auf 64° bezw. 53°. Auf 65° bezw. 70° waren beide nach 13 Tagen. Während das erste nun bis

nächsten Umgebung höchstens 5 cm in den Mist hineinragen, und zwar No. 1 von der Mitte des Südrandes, No. 2 von der Mitte der Westseite, No. 3 von der Mitte der Nordseite und No. 4 von der Mitte der Ostseite.

In der Zeit vom 29. 1. bis zum 17. 2. werden bei allen 12 Thermometern täglich die Temperaturen festgestellt. Vom 18. 2. bis 27. 2. kam in dieser Hinsicht nur noch eine Serienreihe der Hülsenthermometer zur Verwendung, da die andere, wie auch die 4 Maximalthermometer zu einem andern Versuch benutzt wurden.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
735,4	742,4	746,0	96	83	85	9,8	W.	4
751,4	753,4	754,0	84	73	84	2,9	WSW.	3
750,1	746,5	741,4	77	80	87	0,1	SW.	4
738,9	738,9	743,5	83	66	76	1,1	W.	4
751,8	727,8	761,6	84	71	88	0,2	N.	3
762,4	760,4	758,0	86	66	75	—	NW.—SW.	3
755,8	757,1	762,0	80	89	91	—	WSW.—NNW.	3
766,8	768,6	768,9	92	87	82	0,7	NNW.—W.	3
766,3	766,3	762,9	91	94	98	—	W.	4
761,4	764,9	766,8	54	43	65	—	NNW.—W.	5
759,3	754,1	752,5	95	80	76	1,1	W.	6
751,6	754,3	758,4	63	55	63	—	WNW.	4
764,1	766,2	769,4	89	41	55	0,0	NW.	3
769,1	766,8	763,9	91	86	84	—	WSW.	3
762,7	763,8	765,5	87	88	96	0,2	WSW.—WNW.	3
765,8	765,8	766,3	96	82	93	0,2	W.	2
764,8	762,9	763,4	94	60	82	0,1	SO.—WSW.	3
764,0	761,6	757,1	94	62	79	1,8	SW.	4
748,5	752,6	755,4	88	65	79	2,1	W.	4
755,6	756,4	752,5	87	64	70	0,6	WNW.—OSO.	3
742,2	738,1	739,8	92	90	90	0,7	WSW.	3
739,4	742,6	745,0	96	80	80	11,2	W.	4
746,4	749,9	752,2	85	51	81	0,6	WNW.	4
748,9	750,7	746,7	86	60	76	4,6	WNW.—SSW.	4
747,7	749,0	751,0	94	76	80	0,6	WNW.	4
741,6	743,9	745,0	85	86	91	5,0	W.	2
741,7	742,3	744,2	92	68	86	3,2	WSW.	3
745,6	746,0	748,0	94	66	93	0,8	NW.	2
752,2	754,7	757,7	96	89	79	—	W.	3
750,5	747,7	746,7	95	84	85	0,4	SSW.	4

zum 21. Tage von 65° langsam bis 27° fällt, zeigt das zweite am 21. Tage noch einen Aufstieg auf 53°. Die bei 100 cm gehaltenen Hülsenthermometer zeigen ihre Maximaltemperatur innerhalb der ersten Woche mit 64° und 57° nach 3 bezw. 6 Tagen, am 13. bezw. 14. Tage stehen sie auf 65° und 63°. Am 21. Tage zeigen beide einen leichten Aufstieg bis auf 50°; das zweite steht nach 24 Tagen sogar noch einmal auf 53°.

Von den Maximalthermometern zeigen No. 1, 2 und 4 innerhalb der ersten Woche ihre Höchsttemperatur nach 6 Tagen mit 47°, 56° und 55° an. No. 3 weist am 3. Tage bereits 54° auf und fällt von dort ab ständig und allmählich bis auf 24° nach 21 Tagen, während No. 1 und 4 am 13. und 14. Tage noch einen Anstieg auf 55° bezw. 53° haben und No. 3 das zweite Temperaturmaximum mit 57° am 14. Tage erreicht.

Bei dem am 27. 2. 08 erfolgten Abbruch des Haufens erweist sich der kompostierte Dünger in allen Schichten gleichmäßig gut und vollkommen verrottet.

Auch aus diesen wie den früheren Versuchen ergibt sich, daß für die Desinfektion infizierten Düngers durch Packung folgendes Verfahren sich empfiehlt: Der zu desinfizierende Dünger muß auf einer ca. 20 cm starken Isolierlage, von 1,5—2 m Breite und beliebiger Länge, bestehend aus Streu oder nicht infiziertem Dünger, in Dachform aufgeschichtet und hierbei mit den Dunggabeln angeschlagen oder von den Dienern leicht angetreten werden. Danach wird die Miete mit einer ca. 10 cm dicken Streu oder Dungschicht locker belegt und schließlich mit ca. 10 cm dicker Erdlage bedeckt. Es sind dann in der Regel innerhalb der ersten Woche in allen Tiefenlagen wie auch an der Oberfläche Wärmegrade erzielt worden, die mit Sicherheit fast alle Erreger von Tierseuchen abtöten.

III. Versuchsreihe.

Vergleichende Untersuchung zwischen fest angetretener Düngermiete (a) und locker gepackter Düngermiete (b) auf gleicher Unterlage errichtet und mit Erde eingedeckt.

Am 17. 3. wird ein Haufen dachförmig aus 1—8 Tage altem Stalldung errichtet, der von Rindern, Schweinen, Eseln, Pferden, Schafen und Ziegen stammt. Eine rechteckige Grundfläche von 12 Quadratmetern (6 m lang 2 m breit) wird 25 cm dick mit Streustroh bedeckt. Auf diese Unterlage wird der Dünger schichtweise abgeladen. Die nach Süden gelegene Hälfte des Misthaufens wird besonders festgetreten, bis der gepackte Dünger nicht mehr nachgibt. Dagegen wurde die Nordhälfte nur leicht angetreten, wie in den früheren Versuchen.

Schließlich wird der ganze Haufen mit 10 cm dicker Erdschicht eingedeckt. Die Firsthöhe beträgt danach 1,35 m. Alsdann werden von der Rückenlinie des Haufens je 4 Thermo-

Datum	a) Festgetretene Miete						b) Locker gepackte Miete					
	Hülsentermometer				Maximal-thermometer		Hülsentermometer				Maximal-thermometer	
	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	1	2	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	3	4
19. 3.	38	32	28	24	20	36	67	48	39	37	38	47
20. 3.	35	33	30	25	20	40	70	52	39	38	45	60
21. 3.	44	38	32	25	32	44	69	56	43	42	50	43
22. 3.	54	42	35	25	35	42	68	61	51	46	51	46
24. 3.	60	52	38	27	36	43	69	73	69	67	50	45
25. 3.	61	55	43	27	38	44	64	65	60	66	53	63
26. 3.	57	47	43	29	25	38	53	58	52	61	51	61
27. 3.	48	41	50	38	27	36	49	55	50	58	52	50
28. 3.	46	43	47	48	32	34	44	51	45	55	55	44
29. 3.	43	41	44	40	26	30	39	45	42	52	38	37
30. 3.	40	39	43	34	29	29	33	49	40	48	35	36
31. 3.	39	37	40	30	33	25	33	57	35	45	36	33
1. 4.	48	37	41	35	35	30	31	35	34	40	36	34
2. 4.	51	40	37	38	38	29	30	33	32	40	33	29
3. 4.	49	36	36	41	48	25	28	32	31	37	37	28
4. 4.	47	38	33	44	46	27	27	30	31	35	35	26
5. 4.	40	33	36	47	43	26	25	28	29	35	36	27
6. 4.	38	32	32	40	39	25	26	29	26	33	32	25
7. 4.	33	31	30	33	30	23	24	25	28	30	29	30

Die Maximalthermometer Nr. 3 und 4 stiegen mit dem 10. bezw. 7. Tage auf 55 ° bezw. 63 °; Nr. 3 hielt 7 Tage lang eine Temperatur zwischen 50 °—55 ° und Nr. 4 stand sogar 2 Tage zwischen 61 °—63 °.

Demnach herrschten in allen 4 Tiefenlagen, wie auch an der Oberfläche der nur leicht an-

meter zu 25, 50, 75 und 100 cm Tiefe stark in die festgetretene und in die gewöhnlich hergestellte Düngermietenhälfte versenkt. Außerdem dienen etwa 25 cm lange Maximalthermometer, deren Quecksilberkugeln noch gerade durch die Erddecke bis an die Mistoberfläche reichen, zur Feststellung der hier herrschenden Temperaturen. Und zwar sind in der Mitte jeder Hälfte zwei, eines an der Ost- und eins an der Westseite.

In der besonders festgetretenen Hälfte wurden somit am 7. Tage die Maximaltemperaturen erreicht in Tiefe von 25 und von 50 cm, sowie bei Nr. 1 und Nr. 2 mit 61° und 55°, bezw. 38° und 44°.

In Tiefe von 25 cm herrschte 3 Tage lang eine Temperatur von 57°—61°; und in Tiefe von 50 cm eine solche von 52°—55° während 2 Tagen. Tiefe von 75 cm gab das Maximum am 9. Tage mit 50°; in der Tiefe von 1 m zeigte das Thermometer am 10. Tage 43° und dann am 17. Tage 47°. Im allgemeinen kann man wohl, 25 cm Tiefe ausgenommen, sagen, daß bei ganz besonders fester Packung nicht derartig hohe und vor allem nicht so lang andauernde Wärmegrade erzielt werden, weder im Haufen, noch an seiner Oberfläche, wie bei der lockeren Dungpackung.

Die Nordhälfte der Düngermiete, die beim Aufschichten nur leicht angetreten war, zeigte in Tiefe 25 cm das Temperaturmaximum mit 70° am 3. Tage; das Thermometer gab hier 6 Tage lang 64°—70° an. Am 6. Tage wurde die Höchsttemperatur in Tiefe 50, 75 und 100 cm angezeigt mit 73, 69 bezw. 67°.

In Tiefe 50 cm waren 6 Tage lang zwischen 50° und 73°. In Tiefe 75 cm stand das Thermometer 2 Tage zwischen 60°—69° und 5 Tage zwischen 50°—69°. Auch in der Tiefe von 1 m herrschten 3 Tage lang Temperaturen zwischen 61° und 67° und 6 Tage lang zwischen 50° und 63°.

Lufttemperatur in C°		Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
Max.	Min.	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr			
6,9	0,8	752,8	752,7	754,2	86	68	90	1,3	O	2
8,1	3,0	754,5	754,9	755,6	89	70	93	0,2	O	2
9,6	4,1	757,0	757,7	758,7	94	64	75	0,2	O	3
11,8	2,6	757,6	756,1	754,3	92	56	76	—	O	3
9,8	0,4	758,0	759,3	761,8	80	54	68	—	OSO	3
7,1	— 0,5	763,5	763,4	764,0	68	50	70	—	O	4
10,2	— 0,1	765,3	764,5	764,2	78	40	60	—	O	4
11,7	— 1,0	764,1	762,9	764,2	74	35	39	—	O	3
13,1	— 0,6	766,2	764,7	763,8	70	31	43	—	O	3
15,6	1,8	762,5	763,9	761,2	76	30	46	—	SO	4
13,8	5,4	757,7	756,4	756,1	28	41	82	0,0	SW	4
10,5	4,8	750,4	750,4	748,1	83	91	79	2,2	SW	4
7,0	2,6	747,6	748,0	740,1	81	88	84	4,0	WSW—NNW	3
9,9	2,1	755,5	757,7	759,6	86	80	82	4,7	SW	3
8,5	1,7	757,6	754,1	752,2	78	89	93	1,2	S	3
11,4	4,9	761,8	751,4	756,8	90	58	79	1,6	SW	3
12,1	4,1	752,2	752,7	753,6	87	59	74	—	SW—NNO	2
14,0	5,1	753,9	755,1	757,7	85	61	61	0,1	ONO	4
13,6	4,5	761,4	761,8	762,0	03	80	78	0,6	NNO	5

getretenen Düngerhälfte höhere Temperaturen, die noch dazu längere Zeit in der Höhe anhielten, als in der ganz besonders fest angetretenen Mietenhälfte.

Vor Abbruch dieses Haufens wurde am Südende die Firsthöhe mit 1,05 m ermittelt, am Nordende mit 75 cm.

Der stark festgetretene Dünger ließ in den Außen- und Tiefenschichten nur eine geringe Veränderung nach Aussehen und Beschaffenheit erkennen. Er war noch ziemlich lang, wenig feucht und von gelbbrauner bis dunkelbrauner Farbe, dagegen in den inneren Schichten meist kurz, saftig und schwarzbraun, seltener bereits verrottet.

Der locker gepackte Dünger dieser Miete zeigte in allen Lagen eine fast gleichmäßig gute Verrottung.

Während in der festgetretenen Miete nur in den günstigen Tiefenlagen von 25 ccm und 50 ccm Wärmegrade erzielt werden, die zur unschädlichen Beseitigung infektiöser Erreger ausreichen, zeigt die locker gepackte Miete durchweg und in allen Schichten eine gleichmäßig gute Durchwärmung von 67°—73°. Gegen Ende der ersten Versuchswoche setzte bei scharfem Ostwind von 3—4 Windstärke unter völligem Fehlen von Niederschlägen Frostwetter ein, so daß der Erdbelag auf der Miete noch undurchlässiger wurde für eine etwaige Wärmeabgabe aus dem Dunghaufen an die Außenluft. In der schlecht durchwärmten, besonders festgetretenen Miete sind trotz des günstigen Frostwetters an der Dungoberfläche nur Maximaltemperaturen von 38 und 44° gemessen worden, während in der gleichmäßig gut durchwärmten, locker gepackten Miete 7 Tage lang an der Dungoberfläche 50°—55° bezw. 4 Tage 50°—63° herrschen.

Somit ergibt sich, daß Seuchendünger zum Zwecke der unschädlichen Beseitigung der in ihm vorhandenen infektiösen Keime nicht sehr festgetreten werden darf, sondern daß die letzteren bei lockerer Packung des Düngers weit sicherer abgetötet werden.

Datum	Hülsenthermometer								Maximalthermometer		
	25 cm	25 cm	50 cm	50 cm	75 cm	75 cm	100 cm	100 cm	1	2	3
23. 3.	49	52	46	38	57	51	42	49	45	41	39
24. 3.	52	55	51	47	56	54	39	53	59	50	51
25. 3.	58	48	55	49	58	59	45	55	55	56	53
26. 3.	59	64	60	56	54	63	58	56	57	61	56
27. 3.	63	61	65	58	49	61	59	51	61	62	55
28. 3.	57	59	63	57	46	58	55	48	65	64	51
29. 3.	55	57	59	54	39	57	51	46	59	60	49
30. 3.	49	51	55	56	45	51	48	45	55	52	45
31. 3.	52	49	50	51	48	52	45	42	51	48	42
1. 4.	46	43	49	48	47	48	42	39	48	47	38
2. 4.	43	38	49	43	38	45	40	36	44	45	36

Bei der täglich erfolgten Temperaturfeststellung ergeben sich für die acht Hülsenthermometer etwa am 5. oder 6. Tage die Maxima mit 63° und 64° für 25 cm Tiefe; mit 65° und 58° für 50 cm; mit 58° und 63° für 75 cm Tiefe und mit 59° und 56° für 1 m Tiefe. Die drei Maximalthermometer erreichten ihre Höchsttemperatur am 5. bezw. 7. Tage mit 56° und 64° bezw. 65°.

2. Versuch b. Am 2. 4. wurde dieser durchkalkte und erhitzte Dünger aus der Grube entfernt; er war, von der reichlichen Kalkfarbe abgesehen, stark gebräunt und saftig, teilweise verrottet; im allgemeinen waren die Strohteile nur kurz und sehr mürbe; der Dünger fast durchweg von gleich guter Qualität.

Nachdem die Grube gehörig gereinigt war, wurde sie am 3. 4. früh mit 1—8 Tage altem Stalldung, der wie vorher von Rindern, Kälbern, Schweinen, Pferden, Eseln, Schafen und Ziegen herrührte, schichtweise angefüllt und leicht angetreten bis zur Höhe von 1 m. Von der Oberfläche des Düngers aus wurden am 3. 4. acht Hülsenthermometer und zwar je zwei für die Tiefen 25, 50, 75 und 100 cm in den Dungstapel versenkt. Die 1 m langen Hülsen berührten mit ihren Spitzen den Boden der Grube. Ferner dienten drei Maximalthermometer zur Ermittlung der Oberflächentemperatur; sie ragten etwa 5 cm in den Stapel hinein.

In Tiefe 25 cm wurden am 3. bezw. 8. Tage die Maximaltemperaturen mit 65° und 63°

IV. Versuchsreihe.

Locker geschichteter Dünger in einer ausgemauerten Grube:

1. mit 300 l einer 10 %igen Kalkmilch durchtränkt,
2. ohne Zusatz als Kontrolle.

1. Versuch a. Bisher hatten sich aus der Selbsterhitzung der auf dem Erdboden errichteten Düngerhaufen bei geeigneter Anlage recht günstige Resultate ergeben für die Abtötung einer sehr großen Zahl tierpathogener Mikroorganismen. Es war daher von Interesse, auch mit Stalldünger in Dunggruben Versuche anzustellen. Zu diesem Zwecke wurde am 22. 3. eine vollständig abgeschlossene und überdachte Düngerfläche, deren Seiten- und Bodenflächen gemauert und auszementiert sind, innerhalb eines Tages mit 1—8 Tage altem Stalldünger voll geschichtet und leicht angetreten, bis die Düngeroberfläche mit dem Erdboden etwa in gleicher Höhe war. Die Seite der quadratischen Grundfläche ist 3 m lang; der Dünger war 1,00—1,10 m vom Boden der Düngergrube aus hochgestapelt. Von der Oberfläche wurden je zwei Hülsenthermometer für die Tiefen 25, 50, 72 und 100 cm senkrecht in den Dung gesteckt. Die beiden 1 m langen Thermometer standen am Grubenboden auf; das eine reichte über die Marke noch 10 cm hinein, kam mithin als 1,10 m langes Thermometer zur Geltung.

Auch wurden noch zum Messen der Oberflächentemperatur 3 Maximalthermometer ca. 5 cm tief in den Dung hineingesteckt. Bevor jedoch die 11 Wärmemesser ihre Plätze erhielten, war die Gesamtdüngermenge von der Oberfläche her mit 30 Eimern (à 10 l) einer frischen 10 %igen Kalkmilchlösung durchtränkt worden.

Lufttemperatur in C°		Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
Max.	Min.	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens	mittags	abends			
9,8	0,4	758,0	759,3	761,8	80	54	68	—	OSO	3
7,1	— 0,5	763,5	763,4	764,0	68	50	70	—	O	4
10,2	— 0,1	765,3	764,5	764,2	78	40	60	—	O	4
11,7	— 1,0	764,1	762,9	764,2	74	35	41	—	O	3
13,1	— 0,6	766,2	764,7	763,8	70	31	43	—	O	3
15,6	1,8	762,5	762,2	761,2	76	30	46	—	SO	4
16,2	3,5	762,7	761,7	760,1	72	32	70	—	S	2
13,8	5,4	757,7	756,4	761,1	78	41	82	0,0	SW	4
10,5	4,8	750,4	750,4	648,1	83	91	79	2,2	SW	4
7,0	2,6	747,6	748,0	750,1	81	88	84	4,0	WSW—NNW	3
9,9	2,1	755,5	757,7	759,6	80	82	86	4,7	SW	3

gemessen. An beiden Stellen hatten 9 Tage lang 50°—63° bezw. 65° geherrscht. In 50 cm Tiefe fanden sich am 3. und 4. Tage 70° und 59°. In 75 cm Tiefe stieg die Temperatur am 5. bezw. 3. Tage bis 62° bezw. 65°. Endlich war in 1 m Tiefe die Maximaltemperatur 53° bezw. 54°. Hier stand die Temperatur 2 bezw. 3 Tage lang zwischen 50° und 53° oder 54°. Die drei Maximalthermometer stiegen mit dem 4. bezw. 5. Tage bis 63° bezw. 55° und 65° an.

Der nachher ausgeräumte Dünger zeigte eine fast gleichmäßige Beschaffenheit, war der Hauptsache nach mürbe, dunkelbraun und teils schon verrottet.

Im allgemeinen läßt sich wohl sagen, daß in beiden Versuchen in allen Tiefenlagen und an der Oberfläche bei geeigneter Lagerung Temperaturen entstanden, welche zur Abtötung der weitaus größten Zahl aller tierischen Infektionserreger ausreichen. In jedem Fall hat das Durchtränken des Dungstapels mit 300 l 10 %iger Kalkmilchlösung keinen nachteiligen Einfluß auf die Entstehung der Selbsterhitzung und auf die Höhe der erzeugten Temperaturen ausgeübt. Vielmehr scheint, wenigstens nach diesem einen Versuch zu urteilen, das Eintreten der Höchsttemperatur in allen Lagen zeitlich gleichmäßiger zu erfolgen; auch beträgt die weiteste Differenz zwischen den ermittelten Maximaltemperaturen nur 9°, im Gegensatz zum Kontrollversuch mit 17° und einem

Datum	Hülsenthermometer								Maximalthermometer		
	25 cm	25 cm	50 cm	50 cm	75 cm	75 cm	100 cm	100 cm	1	2	3
4. 4.	59	50	54	55	57	60	51	50	51	53	41
5. 4.	**65**	49	**70**	41	58	**65**	**53**	52	48	40	29
6. 4.	60	55	60	**59**	53	64	49	**54**	49	**63**	44
7. 4.	57	57	57	58	**62**	61	45	46	**55**	49	**65**
8. 4.	55	59	55	45	40	56	40	42	46	63	59
9. 4.	57	60	58	44	45	55	40	45	47	55	45
10. 4.	50	**63**	50	55	45	50	40	47	44	52	46
11. 4.	45	56	47	40	38	50	47	39	50	45	50
12. 4.	47	52	43	49	36	51	45	41	52	41	46

zeitlich weit ungleichmäßiger erfolgten Eintreten der Höchsttemperatur in den verschiedenen Tiefenlagen.

Nach einigen landwirtschaftlichen Autoren scheinen früher die Ammoniakverluste des Düngers durch Kalkbehandlung überschätzt zu sein; so befürchtet Vogel (35) keine Verluste, wenn zur Einstreu in den Ställen Torf verwendet wurde, und der Dünger feucht gehalten wird. Ferner erklären Dietzell, Wagner und Pfeifer (31), daß, selbst wenn man den Dung mit Ätzkalk durchschichtet und dann mit Erde zudeckt, keine stärkere Verflüchtigung von Ammoniak stattfindet, aber das sonst unausbleibliche Entweichen elementaren Stickstoffs verhindert ist, da die „Salpeterfresser" abgetötet werden.

Auch Behrens (33) konnte diese stickstoffkonservierende Kraft des Kalkes konstatieren und meint, da derselbe chemisch das Ammoniak aus seinen Salzen austreiben müßte, sei diese Wirkung wahrscheinlich biologisch zu erklären. Dagegen werde die Nitrifikation außerordentlich angeregt, und die salpetrige Säure in löslichen, salpetersauren Kalk übergeführt.

V. Versuchsreihe.

Drei locker geschichtete Mieten, dachförmig, auf einer Isolierlage von Stroh errichtet, an der Oberfläche mit Langstroh belegt und mit Erde eingedeckt.

1. mit Einstreu von 3 kg Superphosphat.
2. mit Einstreu von 3 kg Kainit.
3. ohne Einstreu als Kontrolle.

Datum	Hülsenthermometer				Maximal-thermometer		Lufttemperatur in C°	
	25 ccm	50 ccm	75 ccm	100 ccm	1	2	Max.	Min.
13. 4.	22	26	38	41	19	27	6,9	2,5
14. 4.	61	56	65	62	31	45	10,4	3,8
15. 4.	**71**	**69**	**73**	72	49	53	11,2	3,4
16. 4.	65	59	65	**73**	53	**58**	17,4	3,1
17. 4.	55	51	54	59	**57**	55	13,5	3,0
18. 4.	41	42	47	47	43	48	9,6	1,6
19. 4.	44	33	40	51	37	40	11,5	4,4
20. 4.	39	38	38	42	14	36	8,2	1,4
21. 4.	37	35	37	39	31	**59**	8,4	0,7
22. 4.	40	33	35	35	39	37	9,5	0,8
23. 4.	41	36	38	33	38	33	12,5	3,8

Lufttemperatur in C°		Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm. 7 Uhr	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
Max.	Min.	morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens	mittags	abends			
11,4	4,9	751,8	751,4	756,8	90	58	79	1,6	SW	2
12,1	4,1	752,3	752,7	753,6	87	59	74	—	SW—NNO	2
14,0	5,1	753,9	754,1	757,7	85	61	61	0,1	ONO	4
13,6	4,5	761,4	751,8	762,0	83	80	78	0,9	NNO	5
11,1	1,2	761,8	759,9	758,1	85	51	72	—	NO	3
8,1	1,2	755,4	753,6	752,8	82	54	82	—	N	4
7,6	2,2	751,1	750,9	751,5	84	58	78	—	N	3
10,6	3,7	752,2	752,7	754,0	88	51	78	1,5	N	2
6,9	2,5	755,7	767,7	757,0	78	66	80	—	N	2

1. Versuch. Da in manchen Betrieben ein Zusatz von chemischen Dungstoffen zum Stalldünger nicht ungewöhnlich ist, prüfte ich noch von derartigen Mitteln das Superphosphat und den Kainit darauf hin, ob bei ihrer Anwendung als schichtweise Einstreu in dem zu desinfizierenden Düngerhaufen eine Einwirkung auf die Höhe der erzeugten Temperatur irgendwie stattfindet.

Zu diesem Zweck ließ ich am 12. 4. aus 1—8 Tage altem Stalldünger drei Mieten errichten, von denen jede eine rechteckige Grundfläche von 8 m Länge und 1,5 m Breite hatte. Nachdem vorher der Erdboden mit einer 20 cm dicken Schicht von strohigem Mist bedeckt war, wurde der Stalldung bei schichtweiser Einstreu der erwähnten Düngemittel zur Dachform aufgepackt und in verschiedenen Lagen leicht angetreten.

Miete I erhielt als Einstreu 3 kg Superphosphat, Miete II Kainit, Miete III wurde ohne Einstreu in der schon früher oft beschriebenen Weise hergerichtet; sie diente gewissermaßen als Kontrolle. Der Aufbau aller drei Mieten geschah zur gleichen Zeit mit demselben Dünger. Alle Mieten hatten eine Höhe von 1,25 m von der Firstlinie aus gerechnet und wurden mit 10 cm dicker Langstrohschicht belegt und darnach mit 10 cm dicker Erdschicht bedeckt. Zur Feststellung der in den Haufen gebildeten Wärmegrade dienten je vier Hülsentermometer für die Tiefen 25, 50, 75 und 100 cm. Außerdem kamen zur Temperaturmessung für die Dungoberfläche je 2 Maximalthermometer in Anwendung.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens	mittags	abends			
755,7	756,7	757,0	78	66	80	—	N	2
756,9	756,0	757,3	85	54	73	5,3	ONO	4
759,1	760,1	761,9	82	66	66	2,4	O	4
761,6	763,7	763,4	86	47	59	0,8	O	3
764,2	762,8	762,2	78	39	57	—	NO	1
759,4	756,0	751,9	82	47	66	—	N	1
744,5	741,5	739,3	86	84	78	1,0	WSW	3
743,0	744,5	746,2	90	67	73	0,7	NO	2
746,8	745,2	745,9	86	77	75	0,1	SW	4
750,1	750,3	751,9	78	26	80	—	SW	3
750,7	749,4	749,9	81	57	76	—	S	3

Kulturversuch.

Erreger	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Kontrolle
Rotz	—	—	—	—	+
Brustseuche	—	—	—	—	+
Ahsteckender Scheidenkatarrh .	—	—	—	—	+

In der Superphosphat-Miete ergaben sich die bezgl. Höchsttemperaturen für die Tiefenlagen 25, 50, 75 und 100 cm mit 71°, 69°, 73° und 73°. Die Maximalthermometer zeigten dicht an der Oberfläche 53° und 58° C. Diese Maximaltemperaturen wurden von allen am 4. oder 5. Tage erreicht.

Die vier Hülsenthermometer waren in schon früher beschriebener Weise mit zugeschmolzenen Glasröhrchen versehen worden, welche die nachstehenden Bouillonkulturen enthielten: Rotzbazillen und die Erreger der Brustseuche, sowie des ansteckenden Scheidenkatarrhs der Kühe, ferner pulverisiertes getrocknetes Muskelfleisch von an Rauschbrand verendeten Meerschweinchen. — Die in den zugeschmolzenen Glasröhrchen enthaltenen Bouillonkulturen wurden am 23. April zunächst auf Kartoffeln (Rotz) und Agar-

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer		Lufttemperatur in C°	
	25 ccm	50 ccm	75 ccm	100 ccm	1	2	Max.	Min.
13. 4.	19	17	33	30	40	41	10,1	3,8
14. 4.	55	41	56	40	29	38	11,2	3,4
15. 4.	78	71	73	75	25	46	17,4	3,1
16. 4.	60	64	65	71	50	49	13,5	3,0
17. 4.	65	59	52	65	58	58	9,6	1,6
18. 4.	51	41	48	58	49	56	11,5	4,4
19. 4.	36	38	38	40	23	39	6,9	2,0
20. 4.	32	33	35	34	20	27	8,2	1,4
21. 4.	37	31	39	43	48	48	8,4	0,7
22. 4.	39	36	41	36	39	31	9,5	0,8
23. 4.	28	37	29	39	43	42	12,5	3,8

Demnach waren in der Kainit-Miete am 4. Tage die den Tiefenlagen 25, 50, 75 und 100 cm entsprechenden Maximaltemperaturen mit 78°, 71°, 73°, 75°. Dicht an der Oberfläche bis 58° und 58° am 6. Tage. Die beiden für die Tiefenlagen 75 cm und 100 cm bestimmten Hülsenthermometer wurden noch zu Versuchsbeginn mit je fünf zusammengeschmolzenen Glasröhrchen versehen, in denen sich filtriertes Blutserum von an Schweinepest verendeten oder in der Agonie geschlachteten Tieren befand. Jedes Röhrchen enthielt 3 ccm. Die beiden am Ende des Versuchs mit dem Inhalt von je fünf Röhrchen subkutan geimpften Ferkel erkrankten nicht. Während das Kontrollferkel an Schweinepest nach 12 Tagen verendete.

Der gleichzeitig zur Kontrolle angestellte Versuch mit Dung, dem ein chemisches Mittel nicht zugesetzt war, lieferte das in der folgenden Tabelle verzeichnete Resultat.

Die Kontrollmiete hatte demnach in den Tiefenlagen von 25, 50, 75 und 100 cm am vierten Tage die Höchsttemperatur mit 72°, 73°, 64° und 55°. Am 5. und 6. Tage zeigten die Maximalthermometer 54° bezw. 59° C.

Im allgemeinen besteht wohl in den Resultaten dieser drei Versuche kein bedeutender

Tierversuch.

Erreger	25 cm	50 cm	75 cm	100 cm	Kontrolle
Rotz	—	—	—	—	+
Brustseuche	—	—	—	—	+
Ansteckender Scheidenkatarrh .	—	—	—	—	+
Rauschbrand	+	+	+	+	+
Schweinepest (filtr. Virus) . .	.	.	—	—	+

platten verimpft und danach Meerschweinchen (Rotz) und weiße Mäuse subkutan infiziert. Auf den Nährsubstraten trat kein Wachstum ein und die geimpften Tiere blieben am Leben. Auf den Kontrollnährböden wuchsen Reinkulturen genannter Erreger und die Kontrolltiere zeigten bei der Obduktion und mikroskopischen Untersuchung die Erreger, wie ihre pathologischen Veränderungen.

Das pulverisierte Muskelfleisch mit den Rauschbrandsporen erwies sich nach subkutaner Impfung auf alte Meerschweinchen genau so virulent als das im Zimmer gehaltene Kontrollfleisch. Alle Versuchstiere erlagen der Rauschbrandinfektion.

Über den Versuch mit Kainit gibt die folgende Tabelle Aufschluß.

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens	mittags	abends			
756,9	756,0	757,3	85	54	73	5,3	ONO	4
759,1	760,1	761,9	82	66	66	2,4	O	4
764,6	763,7	763,4	86	47	59	0,8	O	3
764,2	762,8	762,2	78	39	67	—	NO	1
759,4	756,0	751,9	82	47	66	—	N	1
744,5	741,5	739,3	86	84	78	1,0	WSW	3
737,1	740,0	742,2	96	70	75	2,1	NW	3
743,0	744,5	746,2	90	67	73	0,7	NO	2
746,7	745,2	745,9	86	77	75	0,1	SW	4
750,1	750,3	751,9	78	26	80	—	SW	5
750,7	749,4	749,9	81	57	76	—	S	3

Unterschied; höchstens fällt die Temperatur der Kontrollmiete für 1 m Tiefe etwas ab. In jedem Fall aber wird durch eine Einstreu von chemischen Düngestoffen die Entstehung der für die Vernichtung pathogener Mikroorganismen im Düngerhaufen sonst erzeugten Wärmegrade in keiner Weise nachteilig beeinflußt. Aus diesem einen Versuch könnte man sogar annehmen, daß durch die Einstreu von Kainit oder Superphosphat eine für alle Schichten gleichmäßigere und im allgemeinen höhere Temperatur erzeugt wurde, als bei der Kontrollmiete und in früheren Versuchen.

Holdefleiß prüfte einzelne Dünger-Zusatzmittel z. B. auch Superphosphat und Kali auf ihre Fähigkeit, aus dem Düngerhaufen entweichende Zersetzungsprodukte chemisch zu binden. Er fand, daß bei Zusatz von Superphosphat, welches beim Abladen des Mistes zu Haufen schichtweise eingestreut war, der Stickstoff unvermindert blieb und nur $^{2}/_{3}$ der organischen Stickstoffmenge zu anorganischem Stickstoff umgewandelt wurde. Bei Kalizusatz blieb der Stickstoff selbst auch unvermindert und nur $^{1}/_{3}$ der organischen Stickstoffmenge wurde zu anorganischem Stickstoff gewandelt; es blieb also in beiden Fällen noch organische Stickstoffsubstanz im Dung, die dann langsam im Erdboden verrotten konnte.

Datum	Hülsenthermometer				Maximalthermometer		Lufttemperatur in C°	
	25 ccm	50 ccm	75 ccm	100 ccm	1	2	Max.	Min.
13. 4.	41	58	10	20	10	41	10,4	3,8
14. 4.	68	69	53	32	29	48	11,2	3,4
15. 4.	**72**	**73**	**64**	**55**	33	46	17,4	3,1
16. 4.	70	70	63	51	**54**	53	13,5	3,0
17. 4.	67	65	49	50	53	**59**	9,6	1,6
18. 4.	59	52	29	48	50	58	11,5	4,4
19. 4.	55	46	27	45	41	55	6,9	2,0
20. 4.	48	41	35	46	40	56	8,2	1,4
21. 4.	46	43	36	47	29	51	8,4	0,7
22. 4.	49	46	31	38	38	49	9,5	0,8
23. 4.	43	45	29	36	42	47	12,5	3,8

VI. Ergebnisse der Temperaturmessungen in den Düngermieten und das Packungsverfahren.

Über die Temperatursteigerung im lagernden Mist liegen einzelne Beobachtungen vor. So führt Behrens als Maximum der bei lockerer Lagerung des Mistes erzielten Temperatur 75° an. Dietzell, Pfeifer und Wagner stellten bei einem Misthaufen, der von 10 zu 10 Tagen umgeschaufelt wurde, bei einer Tiefe von 30, 60 und 90 cm Temperaturen zwischen 40° und 66° fest. Eber hat in reich mit Torf versetztem Mist von Rindern Temperaturen von 60° bis 70° ermittelt. Hansen und Günther verzeichneten bis zu 67°. Gärtner erwähnt bei seinen Kompostierungsversuchen Wärmegrade von 70°. Hecker hat im Sommer bis 70°, im Herbst dagegen nur bis 53° beobachtet; Stutzer fand im Februar bei — 15° Außentemperatur im locker gelagerten Dünger bis 60°. Pfeiler stellte im Sommer und Herbst in verschiedenen Tiefenlagen seiner locker gepackten, ohne Erdeindeckung stehenden Misthaufen Wärmegrade in maximo zwischen 73° und 76,5° fest. Im allgemeinen beziehen sich in der Literatur die Höchsttemperaturen in dem fast immer ohne Eindeckung gelagerten Mist auf die an sich günstigsten Tiefenlagen von ca. 30—60 cm; denn meistens wurde nur die im Zentrum des Haufens herrschende Temperatur gemessen. Pfeiler stellte alsdann in 34 Versuchen bei seinem ca. 1 cbm Dünger enthaltenden Haufen die Temperatur in den Tiefenlagen 20, 40, 60 und 80 cm täglich fest und lieferte somit ein reiches statistisches Material hinsichtlich der in locker gepackten Dunghaufen ohne Eindeckung entstehenden Wärmegrade, deren Höhe und Andauer im allgemeinen in der warmen Jahreszeit ausreichte, die Erreger von Geflügelcholera, Rotlauf, Schweineseuche und Tuberkulose, sowie Bacillus suipestifer zu zerstören. Die von Pfeiler ermittelte Höchsttemperatur betrug 76,5° in 80 cm Tiefe in locker gelagertem langem Pferdemist.

Wenn auch die angegebenen Höchsttemperaturen — es wurde von mir einmal bei 25 cm Tiefe 78° gemessen — einen gewissen Anhalt gaben über die im Düngerhaufen entstandenen Wärmegrade, so ist es doch weit wichtiger zu erfahren, ob in allen Tiefenlagen, insonderheit in den der Wärmeabgabe am meisten ausgesetzten

Luftdruck in mm			Relative Luftfeuchtigkeit			Höhe des Niederschlags in mm	Vorherrschende Windrichtung	Windstärke
morgens 7 Uhr	mittags 2 Uhr	abends 9 Uhr	morgens	mittags	abends			
756,9	756,0	757,3	85	54	73	5,3	ONO	4
759,1	760,1	761,9	82	66	66	2,4	O	4
764,6	763,7	763,4	86	47	79	0,8	O	3
764.2	762,8	762,2	78	29	67	—	NO	1
759,4	756,0	751,9	82	47	66	—	N	1
744,5	741,5	739,3	86	84	78	1,0	WSW	3
737,1	740,0	742,2	96	70	76	2,1	NW	3
744,0	744,5	746,2	90	67	73	0,7	NO	2
746,8	745,2	745,9	86	77	76	0,1	SW	4
750,1	750,3	751,9	78	26	80	—	SW	3
750,7	749,4	749,9	81	57	76	—	S	3

Schichten, wie am Erdboden und an der Oberfläche des Düngers Temperaturen herrschen, die mit Sicherheit die Erreger der meisten Tierseuchen abtöten.

Bei meinen Versuchen hat sich nun herausgestellt, daß bei Schichtung des Düngers direkt auf dem Erdboden, also ohne Isolierunterlage, in den Tiefenschichten von 25 cm, 50 cm, 75 cm und 100 cm im Durchschnitt 65°, 61°, 53° und 45° als Höchsttemperaturen gemessen wurden. Dagegen konnten bei Anwendung der Isolierschicht in den entsprechenden Tiefenlagen im Durchschnitt 67°, 66°, 65° und 59,4° als Höchsttemperaturen festgestellt werden.

An der Ober- und Außenfläche des Düngers wurden bei Fehlen irgendwelcher Eindeckung als Höchsttemperaturen gemessen 20° bis 38°, im Durchschnitt also 29°.

Bei Eindeckung der Haufen mit Erde allein wurden 6 mal 54° bis 63°, im Durchschnitt 60° ermittelt; 2 mal 50° bis 54°, im Durchschnitt 52° und 7 mal 38° bis 50° im Durchschnitt 44° als Höchsttemperatur.

Bei Eindeckung des Düngers mit Isolierlage von Streu oder Nichtseuchendünger und einer Erdschicht ergaben sich 17 mal Höchsttemperaturen zwischen 54° bis 72°, im Durchschnitt 65° und nur 1 mal noch 51°.

Aus den gemachten Angaben geht mithin hervor, daß sich in der Praxis zur sicheren Desinfektion von infiziertem Dünger durch Packung des letzteren zu Haufen oder Mieten folgendes Verfahren eignet.

„Nachdem auf dem Erdboden in beliebiger Länge und in einer Breite von 1,5 bis 2 m eine Isolierunterlage von 25 cm Höhe aus schlechten Wärmeleitern, wie Stroh, Streu oder am besten nicht infiziertem Dünger angelegt ist, wird der zu desinfizierende Dünger schichtweise zu einem Haufen oder einer Miete von steiler Dachform aufgepackt und mit den Dunggabeln festgeschlagen. Wenn schließlich die Firstlinie vom Erdboden etwa 1,25 m entfernt ist, wird der Seuchendünger an seiner Ober- und Außenfläche mit einer 10 cm dicken Isolierschicht aus Stroh, Streu oder nicht infiziertem Dünger belegt und danach überall mit einer 10 cm dicken Erdschicht eingedeckt“.

Nach der Einmietung setzt dann innerhalb der ersten Woche eine Wärmeerzeugung ein, deren Höhe und Andauer allein ausreicht, die Erreger fast aller unserer Tierseuchen mit Sicherheit unschädlich zu beseitigen. Die Temperaturkurve steigt vom Tage der Packung an bis gegen Ende der ersten Woche zum Temperaturmaximum in allen Lagen, auch an der Oberfläche ziemlich schnell an und fällt danach langsam ab. Daher würde ich empfehlen, den eingemieteten Seuchendünger wenigstens 14 Tage unangerührt liegen zu lassen, ehe er auf das Land gefahren wird.

Was die Beschaffenheit des Düngers selbst anlangt, so ist solcher, der einige Tage oder gar Wochen im Stall unter dem Vieh gelegen hat, der geeignetste. Es kommt darauf an, daß Kot und Strohteile gut gemischt und besonders die letzteren mit Jauche oder anderer Flüssigkeit durchfeuchtet sind. Sollte es sich um trocknen, strohigen Dung handeln, so müßte dieser im Haufen vor dem Eindecken mit 10—15 Liter Jauche oder Wasser auf 1 cbm Dung durchtränkt werden.

Die Eindeckung des Seuchendüngers mit Erde allein bietet nicht immer die sichere Gewähr, daß an der Düngeraußenfläche diejenigen Wärmegrade entstehen, welche zur unschädlichen Beseitigung der infektiösen Keime erforderlich sind.

Ein Eindecken von Seuchendünger mit nicht infiziertem Dung empfiehlt sich schon deshalb nicht, weil ein Freilegen und Verschleppen von Seuchendünger oder seinen Erregern z. B. durch Geflügel und Hunde weit eher möglich ist, als bei endgültigem Abschluß durch Erdbedeckung.

VII. Angaben über die bei der Lagerung des Mistes sich verändernde chemische Qualität des Düngers und den Antagonismus zwischen den Bakterien des Mistes und den in ihm befindlichen pathogenen Keimen.

Was die chemischen Veränderungen, die im Miste bei der Lagerung vor sich gehen, betrifft, so handelt es sich nach Herfeldt (47) um Alkalien, z. B. Ammoniak oder Säuren wie Zitronensäure, Milchsäure, salpetrige Säure, Kohlensäure usw., die nachteilig auf tierpathogene Keime wirken könnten. Die schwache keimtötende Eigenschaft des Ammoniak ist bekannt. Ob die gebildeten Säuren oder Alkalien in ausreichender Konzentration für die Abtötung von Mikroben im Misthaufen vorhanden sind, ist nicht sicher bekannt. Manche pathogenen Keime, z. B. Choleravibrio sind nach Gärtner (29) ungemein empfindlich gegen Säuren in geringer Konzentration. Kitasato (48) hält es für wahrscheinlich, daß sowohl die kleinen Mengen freier Säure, wie auch die bedeutenden Quantitäten von Ammoniumkarbonat, die durch Saprophyten produziert werden, auf pathogene Mikroorganismen von tödlicher Wirkung sind Von erheblichem Einfluß können aber bei der Desinfektion des Seuchendüngers im Kompostierungsverfahren sein die durch Saprophyten bedingte Nährstoffentziehung, der entstehende Sauerstoffmangel und die Anhäufung von Kohlensäure (Liborius (49), Sirotinin (50)).

Über den Kampf um ihre Existenzbedingungen, also über den Antagonismus zwischen den bei der Lagerung und Umsetzung des Mistes tätigen Bakterien und den in ihm befindlichen pathogenen Keimen weichen die Ansichten der Autoren sehr voneinander ab, ja widersprechen sich sogar. Bisher ist es nicht entschieden, ob von

den Mistbakterien abgesonderte Stoffwechselprodukte, wie freie Säuren, Alkaliüberschuß und Kohlensäure die pathogenen Keime schädigen oder gar abtöten (Lewek (51), Sirotinin (53)) oder ob die letzteren nur rein mechanisch überwuchert werden (Lewek (51)), oder ob es etwaiger Mangel an Nährstoffen ist, der sie manchmal vernichtet (Garrè (52), Soyka (53)). Nach Garrè (52) wuchsen auf Gelatine, welche die Stoffwechselprodukte von Bacillus fluorescens putridus enthielt, nicht Staphylococcus pyocyaneus aureus, Bacillus typhi abdominalis und Rosa-Hefe; ein schwaches Wachstum zeigte Vibrio cholerae asiaticae und Bacillus mycoides; sehr üppig gediehen dagegen Bacillus Anthracis und Finklers Spirillen.

Soyka impfte Gelatineplatten, auf denen Typhusbazillen in Reinkultur waren, mit Bacillus pyocyaneus, Vibrio cholerae asiaticae, Staphylococcus pyogenes aureus und erzielte eine Hemmung der Vegetationsvorgänge bei den Typhusbazillen.

Ich habe für die Erreger des Milzbrands die Pfeilerschen Versuche nachgeprüft, und zwar dreimal zu verschiedenen Zeiten unter gleichen äußeren Bedingungen für die Temperatur 60°.

Jedesmal wurden 6 Erlenmeyersche Kölbchen mit je ca. 50 g Brei gefüllt, der aus 1–3 Tagen altem Kot von Rindern, Schweinen und Schafen, wie aus Stalljauche von Pferden und Rindern hergestellt war. Dem Inhalte jeden Körbchens wurde alsdann die Milzbrandsporenaufschwemmung einer ganzen Agar-Platte (Doppelschale) zugemischt. Diese Milzbrandsporen waren ca. 3 Wochen alt und hatten gegen strömenden Wasserdampf von 100° eine Resistenz von 1½ Minuten.

Die so mit sehr viel Milzbrandsporen geimpften Kölbchen wurden stets 1 Tag bei 37°, darauf 1 Tag bei 48° gehalten und kamen dann in den auf 60° eingestellten Brutschrank. Die weitere Untersuchung des Kotbreies auf eine etwaige Abtötung der Milzbranderreger hin geschah jeden zweiten Tag durch das Agar-Platten-Verfahren. Aus jedem Erlenmeyerschen Kölbchen wurden 5 Normal-Platinösen Inhalt entnommen und auf 5 Normal-Agar-Platten ausgestrichen. Von dem über die Oberfläche jeder dieser 5 Agarplatten verteilten Kotbrei wurden alsdann noch 1–2 Agarplatten geimpft. Somit kamen jeden zweiten Tag aus den 6 Erlenmeyerschen Kölbchen 30 Ösen Inhalt zur Untersuchung.

Beim ersten Mal konnten bis zum 8. Tage noch sicher Milzbrandkolonien nachgewiesen werden, und zwar waren auf 70 Platten 27 Kolonien. Am 10. Tage wuchsen nur noch 3 Kolonien anf 62 Platten. Am 12. Tage war das Ergebnis ganz negativ. Beim zweiten Versuch waren am 6. Tage auf 60 Platten nur 6 Kolonien zu zählen; vom 8. Tage ab ließen sie sich nicht mehr kulturell nachweisen. Sowohl die am 10. Tage des ersten Versuchs, wie die am 6. Tage des zweiten Versuchs gewachsenen Kolonien waren für weiße Mäuse virulent.

Dagegen waren im dritten Versuch bis zum 14. Tage — länger setzte ich diese Untersuchungen nicht fort — etwa die Hälfte oder gar zwei Drittel der Platten mit Milzbrandkolonien bewachsen. Der hier verwandte Kot war allerdings mehr eingetrocknet wie in den beiden ersten Versuchen.

Es wurden ferner zweimal zu verschiedener Zeit ca. 3 Wochen alte Milzbrandsporen in 4 Agarröhrchen im Wasserbade auf ihre Abtötungstemperatur hin geprüft. Das Wasserbad hatte beim ersten Versuch eine Temperatur zwischen 70° und 75°, beim zweiten Versuch zwischen 72° und 76°. Am 2., 4. und 6. Tage wurden aus jedem der 4 Röhrchen 5 Normal-Platin-Ösen von Milzbrandsporenreinkultur entnommen und auf 5 Agarplatten (Doppelschale) ausgestrichen. Von dem auf die Oberfläche dieser 20 Platten verteilten Material wurden noch weitere 20 Platten beimpft.

In beiden Versuchen waren nach 2 Tagen etwa auf ein bezw. zwei Drittel aller Platten noch Milzbrandkolonien aufgegangen, nach 4 und 6 Tagen war das Ergebnis beide Male negativ. Somit wurden drei Wochen alte Milzbrandsporen mit einer Resistenz von $1^1/_2$ Minuten gegen strömenden Wasserdampf von 100° nach 4 Tagen sicher abgetötet durch eine zwischen 70° und 76° schwankende Temperatur.

Im folgenden sei noch einiges über die Wärmeerzeugung und die sonstigen Umsetzungsvorgänge im locker lagernden Dünger, sowie im Misthaufen unter Erdeindeckung bemerkt.

Im Stallmist finden sich außer der Einstreu die aus dem Tierkörper ausgeschiedenen Stoffe, welche als Kot neben Wasser und mineralischen Salzen gewisse Stoffwechselprodukte der Galle und Bauchspeicheldrüse, vor allem unverdaute und unverdauliche Nahrungsmittel enthalten. Mit dem Harn gelangen besonders Harnstoff, Hippursäure und Harnsäure in den Stalldünger. Für die Qualität des Stalldüngers sind daher Beschaffenheit und Menge des Futters wie der Einstreu von Wichtigkeit; ferner kommen das Alter, die Art und Verwendung, sowie die Pflege und Haltung der Tiere in Frage, und schließlich auch der Grad der Verrottung. Von dem frischen Harn setzen die Ammoniakbakterien den Harnstoff um in kohlensaures Ammoniak und bereiten somit durch Umsetzung der flüssigen, tierischen Ausscheidungen Ernährungsstoffe für andere Bakterien vor, deren Tätigkeit erst im gelagerten und geschichteten Dünger zutage tritt. Das Ammoniak lockert zunächst die Struktur der Einstreu, wirkt chemisch lösend auf gewisse Bestandteile.

Bei der Lagerung erfährt der Mist unter Einfluß von Wärme, Feuchtigkeit und Luft, durch die Tätigkeit einer großen Anzahl verschiedenartiger Bakterien eine wesentliche Veränderung. Anfangs findet unter starker Sauerstoffaufnahme eine heftige Zersetzung der organischen Substanz, u. a. der kohlenstoffhaltigen Materialien in Kohlensäure, Wasser und Ammoniak statt, desgl. infolge der inneren Erhitzung eine Wasserverdunstung, wodurch das Volumen des Haufens kleiner wird. Es werden zunächst die Eiweißstoffe und leimgebenden Gewebe in den Düngersubstanzen unter Bildung von übelriechenden Amidoverbindungen wie Indol, Skatol, Leucin, Tyrosin und Asparagin löslich gemacht. Die genannten Stoffe spalten sich alsdann in Ammoniak und Fettsäure, welche wiederum in einfachere Verbindungen oft unter Bildung von Wasserstoffgas zergliedert werden. Der Schwefel wird in den Eiweißverbindungen durch Proteus sulfureus in Schwefelwasserstoff umgebildet. Die Cellulose durch Bacillus amylobacter unter Wasseraufnahme zunächst in eine zuckerartige Verbindung und dann zu Kohlensäure und Sumpfgas vergoren. Die übrigen stärkehaltigen Substanzen werden in zuckerhaltige Stoffe und Milchsäure beziehungsweise in Kohlensäure und Wasser gespalten. Bei all diesen Vorgängen, die schließlich zur Verrottung des Düngers führen, können neben dem Verlust an Ammoniak auch noch Verlust an Stickstoff durch Verflüchtigung eintreten, wenn durch die Tätigkeit Salpeter bildender Bakterien aus den Ammoniakverbindungen salpeter- oder salpetrigsaurer Salze entstehen oder durch direkte Oxydation von kohlensaurem Ammoniak. (Stutzer (28), Dietzel (31), Hoffmann (54), Lemmermann, Pfeiffer (56), König (57), Heiden (58), Holdefleiß (59)).

Nach Wagner (60) kommen auf 100 Teile Gesamtstickstoff in den Ausscheidungen von Milchvieh bei mittlerer Fütterung rund 60 Teile Kotstickstoff und 40 Teile Harnstickstoff. Besonders der letztere kann nach Übergang in Ammoniakstickstoff sowohl im Stall als auf der Düngerstätte beachtenswerte Verluste erleiden. Nach Gerlach (61) gehen z. B. von lagerndem Stalldünger, der entweder durch regelmäßigen Wasserzusatz feucht gehalten oder ganz trocken aufbewahrt wird von dem überhaupt in Wasser löslichen Gesamtstickstoff verloren 57 % beziehungsweise 93 %. Hiervon war in die unterliegende Erde nichts eingedrungen, sondern der Stickstoff hatte sich in Form von Ammoniak verflüchtigt. Jeder Windstoß und Sonnenstrahl, der den gebreiteten Dünger trifft, führt mit dem verdunstenden Wasser kohlensaures Ammoniak fort, entzieht also dem Stalldünger die wirksamste Stickstoffverbindung.

Bei lockerer Lagerung nehmen die Fäulnisbakterien den Sauerstoff aus der Luft direkt auf; bei festerer Packung reißen sie aus den Kohlehydraten, die im Stroh besonders vorhanden sind, den in gebundener Form vorhandenen Sauerstoff heraus. Dadurch wird der prozentische Gehalt an Kohlenstoff größer. Gleichzeitig ändert sich die physikalische Struktur des Strohs. Mit zunehmendem Kohlenstoffgehalt des Strohs bräunt sich der Dünger immer mehr. Diesen Vorgang nennt man die Gärung des Mistes, die für dessen Wirksamkeit sehr wichtig wird. Kohlensäure geht beim Atmungsprozeß der Fäulnisbakterien in jedem Fall verloren; es ist also ein wirklicher Verlust an organischer Substanz ganz unvermeidlich. Die größten Verluste treten dann ein, wenn atmosphärischer Sauerstoff zur Verfügung steht. Dann verbleibt kein Rest von halbzersetztem Material, sondern dies wird vollständig oxydiert und somit der gesamte Kohlenstoff in flüchtige Kohlensäure verwandelt. Die Verluste des Stalldüngers an Masse sind demgemäß um so größer, je lockerer der Dünger lagert. Unter besonders günstigen Verhältnissen werden wir im Laufe von mehreren Monaten mit dem Verlust von 25 % an Masse zu rechnen haben. Unter ungünstigsten Verhältnissen beträgt der Verlust erfahrungsgemäß bis zu 50 %.

Bei der Entstehung von freiem, elementarem Stickstoff im Dünger kommen wesentlich 2 Gattungen von Bakterien in Betracht. Die eine nennt Stutzer (62) Salpeterbildner, die andere Salpeterzerstörer. Beide sind gleichzeitig im Dünger enthalten. Die Salpeterbildung beruht nach Winogradsky (63) auf der Tätigkeit von 2 wesentlich verschiedenen Mikroorganismen, von denen die größere, kokkenähnliche Form die Eigenschaft besitzt, Ammoniak in Nitrit umzuwandeln, während der andere Erreger, ein kleines Stäbchen, die Überführung des Nitrits in Nitrat bedingt, dessen basische Verbindung (meist mit Kalk) den Namen Salpeter führt. Nach ihm gibt es einen Nitratbildner: Nitrobakter und verschiedene Arten von Nitritbildnern, wie Nitrosomonas europaea, javanensis usw.

Lagert nun der Mist auf dem Hofe, so kommt die obere Schicht mit der Luft in Berührung und es beginnt nach einiger Zeit die Tätigkeit der Salpeterbildner. Der im Ammoniak des Düngers enthaltene Stickstoff ist chemisch mit Wasserstoff verbunden und die Arbeitsleistung der Salpeterbildner besteht darin, daß sie, wenn möglich bei Gegenwart von Feuchtigkeit, Kalk oder Magnesia, die Vereinigung von Wasserstoff und Stickstoff lösen und an Stelle von Wasserstoff in das chemische

Molekül Sauerstoff einfügen. Sie vermitteln also die Bildung eines höchst wichtigen Oxydationsproduktes, des Salpeters.

Hierzu kann nun, bei Gegenwart einer genügenden Menge organischer Substanz die Rückbildung von salpetersauren Verbindungen durch die salpeterfressenden Bakterien kommen. Dieser vom ökonomischen Standpunkt aus nachteilige Vorgang ist zunächst allgemein vom Düngerhaufen her bekannt. Wenn hier nämlich der an der Oberfläche befindliche Salpeter unter Einwirkung von Niederschlägen z. B. Regen oder Schnee aufgelöst wird und in die Tiefe des Haufens sickert, so nehmen hier die sonst auf Kosten der kohlenstoffhaltigen Substanzen atmenden Bakterien den Sauerstoff aus dem Salpeter, wodurch der Stickstoff in der chemischen Verbindung frei wird und als Gas entweicht.

Auch für den im Erdboden selbst befindlichen mineralischen Salpeter haben Krüger und Schneidewind (64) nachgewiesen, daß er bei Gegenwart frischer organischer Subetanz, z. B. durch frischen Stallmist, eine Umsetzung bezw. Zersetzung erleidet, wobei freier Stickstoff entweicht. Bekanntlich läßt man schon aus diesem Grunde der Düngung eines Ackers mit Salpeter niemals eine solche mit frischem Stallmist folgen. Daher ist zur Vermeidung dieses, durch die Salpeterfresser bedingten Stickstoffverlustes nach Stutzer (28), Künnemann (38), Dietzel (65), Pfeifer (66), Wagner (67) die baldige Gewinnung von verrottetem Mist aus dem an organischen Substanzen reichen Stalldung zu erstreben. Denn im verrotteten Mist haben bereits die Verwesungsbakterien den größten Teil der kohlenstoffhaltigen Verbindungen bei ihrer Tätigkeit und der Wärmerzeugung im Düngerhaufen aufgebraucht und somit den „Salpeterfressern" die Existenz mindestens sehr erschwert. Daher empfiehlt Pfeifer (66), um die Tätigkeit der salpeterfressenden Bakterien zu hemmen, neben der Anwendung von Ätzkalk das Kompostierungsverfahren, bei dem der Zutritt von Luft, Licht und Regen möglichst verhindert ist.

Zusammenfassung.

Für die Landwirtschaft entstehen somit die geringsten Verluste an Düngestoffen, sowohl stickstoff- als auch kohlenstoffhaltigen Verbindungen, wenn der Mist ganz fest gepackt und mit Erde eingedeckt wird. Solcher Mist sieht lange Zeit so frisch aus wie Stallmist. Hierbei finden aber keine Umsetzungsvorgänge statt, bei denen solche Wärmegrade erzielt werden, die zur Abtötung der Infektionserreger der meisten Tierseuchen ausreichen.

Bei lockerer Lagerung des Stallmistes ohne Erdeindeckung werden durch die Zersetzungsvorgänge im Haufen zur warmen Jahreszeit zwar Temperaturen erzeugt, bei denen eine sichere Abtötung tierpathogener Keime erfolgt, aber es geht viel von den stickstoffhaltigen Verbindungen verloren und es wird viel Kohlenstoff verbrannt. Daher ist der Verlust an „Masse" bedeutend, nach Stutzer zwischen 25 und 50%. Ferner geht nach Heiden (58) und Holdefleiß (59) in diesem Fall 23% der Stickstoffmenge, die zur baldigen Umbildung in Salpetersäure fähig ist, verloren. Der noch vorhandene Stickstoff besteht fast nur aus solchen Verbindungen, die sich sehr langsam im Boden zersetzen und daher erst allmählich wirken können. Wenn man da-

gegen den Dünger locker packt und schließlich den Haufen mit Erde eindecken läßt, so bleibt noch nach Holdefleiß (59) derjenige Stickstoff, welcher aus der Zersetzung der organischen Verbindung hervorgeht, beinahe vollkommen erhalten und wird in Salpetersäure umgewandelt, dies sind 18—20% des ursprünglich vorhandenen Stickstoffs. Der so unter Erdbedeckung hergestellte verrottete Mist wirkt schnell und kräftig wie eine künstliche Salpeterdüngung und nachträglich noch ebenso wie die gleiche Gabe von Mist, der ohne Erdbedeckung gelegen hat.

Jedoch ist der Gehalt an Kohlenstoffverbindungen zur Humusbildung gering da diese zur Erzeugung der Wärme zu nicht geringem Teil verbrannt sind. Dieser Verlust, der hauptsächlich für leichte, sandige Böden in Betracht käme, läßt sich aber nicht vermeiden. Trotz dieses Mangels dürfte aber im Hinblick darauf, daß der im allgemeinen wichtigere Stickstoff nach Möglichkeit erhalten bleibt, das Dungpackungsverfahren unter Erdeindeckung ganz der Forderung der Veterinärpolizei entsprechen, nämlich:

Unschädliche Beseitigung der im Dünger enthaltenen Erreger tierischer Infektionskrankheiten unter möglichster Schonung der für die Landwirtschaft wichtigen Düngestoffe.

VIII. Weitere Anwendung des Dungpackungsverfahrens zur Abtötuug noch unbekannter Erreger von Seuchen und der tierischen Parasiten von Herdenkrankheiten.

Außer den von mir untersuchten Infektionserregern würden auch die im allgemeinen mikroskopisch nicht erkennbaren Keime mancher Tierseuchen durch die beim Dungpackungsverfahren entstehenden Wärmegrade vernichtet werden. Denn über die Abtötungstemperaturen für die Erreger der Rinderpest, Maul- und Klauenseuche, Pockenseuche, Tollwut und Lungenseuche liegen in der Literatur schon Angaben vor. So geht nach Theiler die Virulenz des flüssigen Rinderpestblutes bei einer Erwärmung auf 36—40° nach 2 Tagen verloren, und das Kontagium selbst wird bei Erwärmen über 60° vernichtet. Nach Celli erlischt die Virulenz des Wutgiftes bei 50—60° innerhalb einer Stunde. Von Hecker ist schon die Vernichtung des Erregers der Maul- und Klauenseuche in geschichtetem Dünger nachgewiesen worden. Nach Semmer-Raupach wird die Virulenz des Erregers der Pockenseuche stark abgeschwächt durch Erwärmen auf 55°; und der Erreger der Lungenseuche wird nach Nocard durch Erwärmen auf 60° vernichtet.

Ferner ist aber auch für die Bekämpfung von Herdenkrankheiten, deren Erreger tierische Parasiten sind, die Desinfektion des Düngers von großer Wichtigkeit; denn von den befallenen Haustieren gelangen die Parasiten selbst oder deren Eier oder ihre Jugendformen vielfach in den Stalldünger. Durch eine eingehende Desinfektion des letzteren z. B. durch die hohen Wärmegrade, welche beim Packungsverfahren entstehen, würden die tierischen Parasiten oder ihre Jugendformen vernichtet werden und somit würde entweder einer weiteren Ansteckung der Haustiere vom Seuchendünger aus oder mit der Dungabfuhr selbst einhergehenden Verseuchung von Acker, Weiden und Wiesen erheblich vorgebeugt werden.

Es sei nur erinnert an die Herdenkrankheiten, deren Erreger zu den Akarinen oder Cestoden, Strongyliden, Filarien, Syngamen, Askariden, Distomen usw. gehören.

IX. Laboratoriumsversuche zur Feststellung der Abtötungstemperaturen von Infektionserregern.

Zur Ergänzung der bei den Dungpackungsverfahren gewonnenen Ergebnisse über die Abtötung der verschiedenen Infektionserreger habe ich noch im Laboratorium die Abtötungstemperaturen für die letzteren geprüft.

Es wurden hierzu dieselben Erreger wie in den früheren Versuchen in nur gut auf Schräg Agar bei 37° gewachsenen, 1—2 Tagen alten Reinkulturen benutzt. Nur Rotzbazillen wurden auf Kartoffeln gezüchtet. Milzbrandsporen rührten von 1—2 Monate alten eingetrockneten Agarkulturen her und zum Versuch mit Rauschbrandsporen diente gepulvertes Muskelfleisch von an Rauschbrand verendeten Meerschweinchen.

Die Prüfung der Widerstandsfähigkeit der Erreger erstreckte sich auf die Temperaturen 50°, 55°, 60° und 65° und zwar je für die Zeitdauer von 5, 10, 15, 24 und 48 Stunden. Zu

Tabelle über

Erreger	50° C					55° C	
	5 Std.	10 Std.	15 Std.	24 Std.	48 Std.	5 Std.	10 Std.
Milzbrandsporen	+	+	+	+	+	+	+
Rauschbrandsporen	+	+	+	+	+	+	+
Rotz	—	—	—	—	—	—	—
Rotlauf	—	—	—	—	—	—	—
Bacillus pyocyaneus	+	+	+	+	+	+	—
Bacterium coli der Kälberruhr	+	+	+	+	+	+	+
Schweineseuche	+	+	—	—	—	—	—
Geflügelcholera	+	+	+	+	+	+	+
Kaninchen-Septicämie	+	+	—	—	—	—	—
Wild- und Rinderseuche	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus suipestifer	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus enteritidis Gärtner	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus typhi murium	+	+	+	+	+	+	+
Diplococcus der Brustseuche	+	+	—	—	—	—	—
Ansteckender Scheidenkatarrh der Rinder	+	+	+	+	+	+	+
Ansteckender Abortus der Stuten	+	+	+	—	—	—	—

X. Schlußsätze.

Aus den vorgeschilderten Versuchen und Untersuchungen ergeben sich folgende Schlußsätze.

1. Durch geeignete Lagerung von Dünger gelingt es, Wärmegrade zu erzielen, durch welche mit Sicherheit fast alle in ihm enthaltenen tierischen Infektionserreger abgetötet werden, wie die Erreger von Rotlauf, Rotz, Schweineseuche, Geflügelcholera, Wild- und Rinderseuche, Brustseuche, Druse, Kälberruhr, seuchenhaftem Abortus der Stuten, infektiösem Scheidenkatarrh der Rinder, der Tuberkulose (Typus humanus und Typus bovinus), der Schweinepest, ferner der Bacillus typhi murium, der Bacillus suipestifer, Bacillus pyocyaneus und Bacillus enteritidis Gärtner.

2. Die Erreger des Milzbrands werden durch die Wärmeleitung im Wachstum vielfach gehemmt, dagegen nur selten abgetötet; die Sporen vom Milzbrand und Rauschbrand werden nicht vernichtet.

diesem Zweck blieben während der Versuche 4 Brutschränke konstant auf die genannten Temperaturen eingestellt.

Zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Erreger für jede der vorbezeichneten Temperaturen und Stundenzahlen dienten 4 Reinkulturen. Nach Ablauf des Versuchs wurden von jeder Reinkultur 3 Agarplatten bezw. 3 Kartoffelröhrchen bei Rotz reichlich geimpft und 24 Stunden bei 37,5° gehalten. Somit bestimmten 12 Kulturen für jede Temperatur und Zeitdauer das Ergebnis.

Waren auf allen 12 Nährsubstraten gar keine Kolonien gewachsen, so wurde dies in nachstehender Tabelle durch (—) ausgedrückt; für 1—3 Kolonien gilt (±), für 4—12 Kolonien (±) und für mehr als 12 Kolonien (+). Mit Milzbrand- und Rauschbrandsporen wurde nur bei 65° und zwar für 24 und 48 Stunden experimentiert und danach Mäuse bezw. Meerschweinchen geimpft. Die Versuchstiere verendeten stets an Milzbrand bezw. Rauschbrand.

In nachstehender Tabelle sind die Abtötungstemperaturen für die verschiedenen Erreger angegeben.

Abtötungstemperaturen.

55° C			60° C					65° C				
15 Std.	24 Std.	48 Std.	5 Std.	10 Std.	15 Std.	24 Std.	48 Std.	5 Std.	10 Std.	15 Std.	24 Std.	48 Std.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

3. Die Vorbedingungen für die abtötende Wirksamkeit der Lagerung des Düngers sind:

a) mäßige Durchfeuchtung des infizierten Düngers und geeignete Zusammensetzung aus Stroh- und Kotbestandteilen, etwa 3 : 2.

b) Völlige Aufhebung der Witterungseinflüsse, von denen freiliegender Dünger sonst betroffen wird, durch Bedecken des infizierten Düngers mit einer isolierenden Schicht von schlechten Wärmeleitern und mit einer alsdann folgenden Erdschicht.

c) Mäßig lockere Lagerung des zu desinfizierenden Düngers in Form von Haufen oder Mieten.

4. Die durch die Umsetzungsvorgänge hervorgerufenen Wärmegrade lassen nach den täglichen Messungen eine Kurve erkennen, die in der Regel schnell ansteigt, gegen Ende der ersten Woche ihren Höhepunkt erreicht und danach langsam abfällt.

5. Die Abtötung der unter 1 genannten infektiösen Keime erfolgt innerhalb 14 Tagen, daher ist erst nach dieser Frist die Abfuhr des infizierten Düngers auf den Acker zu gestatten.

6. In besonders stark festgetretenem Dünger entstehen nicht wie in leicht angetretenen Mieten Wärmegrade von solcher Höhe und Dauer, daß sie zur Abtötung von Infektionserregern ausreichen.

7. Eine möglichst gleichmäßige Vorrottung des gelagerten Düngers kann als Maßstab dienen für die Höhe und Dauer ausreichender Abtötungstemperaturen.

8. Eine sichere Abtötung von Infektionserregern erfolgt auch dann, wenn man den Dünger in ausgemauerten und auszementierten Gruben in analoger Weise aufpackt wie beim Einmieten auf dem Erdboden.

9. Ein Zusatz von 10% Kalkmilch, von Superphosphat- und Kainiteinstreu in den infizierten Dünger, welcher dem Packungsverfahren unterliegt, ist ohne Nachteil für die Höhe und Dauer der erzeugten Wärmegrade, welche zur Abtötung infektiöser Keime erforderlich sind.

10. Durch das auf Seite 351 angeführte Verfahren wird der Dünger nicht wesentlich in seinem Nutzungswerte gemindert, denn die an Stickstoff entstehenden Verluste sind gering, die der kohlenstoffhaltigen Verbindungen freilich nicht unbedeutend.

11. Die im Laboratorium ausgeführten Abtötungsversuche der unter 1 genannten Infektionserreger bei den oben angegebenen Temperaturen und bei längerer Zeitdauer haben bestätigt, daß die Höhe und Dauer der bei den täglichen Messungen ermittelten Wärmegrade in Dungmieten ausreichen, um die in Ziff. 1 bezeichneten Seuchenerreger im Dünger zu vernichten.

Literaturverzeichnis.

1. Dammann, Gesundheitspflege der landwirtschaftl. Haussäugetiere. 3. Aufl. Berlin 1902.

2. Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. II. Edit. Paris 1898; und die Peripneunomie der Rinder. Kolle und Wassermann, Handbuch der pathog. Mikroorg.

3. Kitt, Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. II; und Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. III. Aufl. Wien 1899.

4. Friedberger und Fröhner, Spezielle Pathologie und Therapie.

5. Kitasato, Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt. III.

6. Löffler, Über die Ätiologie des Rotlaufs der Schweine. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1885. I. Bd., S. 46; und Löffler und Frosch, Bericht der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche. B. T. W. 1899. Nr. 2.

7. Rieck und Schade, Desinfektion der Jauche. Berliner Archiv, S. 297.

8. Schmidt, Über die unschädliche Beseitigung und Desinfektion des Düngers. Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde. 1904.

9. Joest, Schweineseuche und Schweinepest.

10. Marchiafava und Celli, Una epizootica di colera dei polla nella campagna di Roma. Bulla della commis. d'Igiene. Roma 1883.

11. Beißwänger, Über Seuchenbekämpfung. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft 1897.

12. Ostertag, Handbuch der Fleischbeschau. 5. Aufl.; Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. XXXVIII.; Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. V. 3.

13. Rosenblatt, Referat in Baumgarten und Tangl. Zum Nachweis der Tuberkelbazillen.

14. Möller, Zeitschr. f. Tuberkulose. II. 1901.

15. Musehold, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1900. 17.
16. Jensen, B. T. W. 1901. Über Abdeckereiwesen.
17. Kästenbaum, Grundriß der Tierseuchen und Parasitenkrankheiten. Leipzig 1899
18. Schütz, Archiv f. wissenschaftl. u. praktische Tierheilkunde. 1894. 1895. 1898.
19. Löffler, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. I, S. 141.
20. Dieckerhoff, Spezielle Pathologie und Therapie.
21. von Ratz, Deutsche tierärztliche Wochenschrift 1900, Nr. 44.
22. Gerlach, Pr. M. 1855/56.
23. Haubner, Gesundheitspflege der landwirtschaftl. Haussäugetiere. II. Aufl.
24. Spinola, Handbuch der spez. Pathologie und Therapie. Berlin 1858.
25. Bermbach und Nevermann, Veröffentl. aus den Jahresveterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens.
26. Uhlenhuth, Hübener, Xylander, Bohtz, Untersuchungen über die Ätiologie der Schweinepest. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1908.
27. Märcker, Jahrbuch der Agrikulturchemie. Halle 1896; und Illustr. Landwirtschaftl. Zeitung. Jahrg. 20, Nr. 28.
28. Stutzer, Über die Einwirkung von Torfmull auf Cholerabakterien. Zeitschr. f. Hygiene. 1893. S. 453; und die Arbeit der Bakterien im Stalldünger. Berlin 1899.
29. Gärtner, Zeitschr. f. Hyg. 1894. Bd. 18, S. 263; und Zeitschr. f. Hyg. Bd. 28, S. 1.
30. Gerson, Vogel und Weyl, Die Schicksale der Fäkalien in kanalisierten und nicht kanalisierten Städten. 1896.
31. Dietzell, Pfeiffer und Wagner, Forschungen über die zweckmäßige Behandlung des Stallmistes.
33. Behrens, Die durch Bakterien hervorgerufenen Vorgänge im Boden und Dünger. Arbeiten der D. L. G. Heft 64, Jahrg. 1901.
34. Vogel, Müntz und Girard, Die Stickstoffverluste im Stallmist und deren Verminderung. Berlin 1894.
35. Vogel, Die rationelle Behandlung des Stallmistes. Dresden 1897.
36. Nevermann, Veröffentlichungen aus den Jahresveterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens. 1905.
37. Eber, Untersuchungen über die Bekämpfung von Tierseuchen mittels schwefelsaurer Torfstreu. Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde. XXIII. 2—3.
38. Künnemann, Versuche mit schwefelsäurehaltiger Torfstreu zur Bekämpfung ansteckender Krankheiten der Haustiere. Archiv f. wissenschaftl. u. pr. Tierheilkunde. XXIII. 4—5.
39. Rabe, Bericht über die Untersuchungen zur Ermittelung des Einflusses der sauren Torfstreu auf die Erreger der Haustierseuchen. Landw. Jahrb. 1897.
40. Stutzer, Über die Einwirkung von Torfmull auf Cholerabakterien. Zeitschr. f. Hyg. 1893. S. 453.
41. Löffler, Landwirtschaftl. Jahrbuch 1897.
42. Fränkel, ebenda.
43. Gärtner, Torfmull als Desinfektionsmittel von Fäkalien. Zeitschr. f. Hyg. 1894. Band 18.
44. Galtier, Traité des maladies contagieuses et de la police sanitaire des animaux domestiques. II. Edit., 2. Vol. Paris 1891.
45. Hecker, Wie schützt man sich gegen Maul- und Klauenseuche. II. Aufl. Leipzig 1901.
46. Pfeiler, Zur Kenntnis der Desinfektion infizierten Düngers durch Packung. Inaug.-Diss. Gießen 1905.
47. Herfeldt, Die Bakterien des Stalldüngers und ihre Wirkung. Zentralbl. f. Bakteriologie Abt. I, Bd. I., S. 79 u. 114.
48. Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten III, S. 404.
49. Liborius, Wachstumshemmende Eigenschaften der Kohlensäure. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. I, 1.
50. Sirotinin, Über die entwicklungshemmenden Stoffwechselprodukte der Bakterien und die sog. Retentionshypothese. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. IV.
51. Lewek, Über den Wachstumseinfluß nicht pathogener Spaltpilze auf pathogene. Zieglers Beiträge z. patholog. Anatomie u. allg. Pathologie VI, Heft III.

52. Garrè, Zentralbl. f. Bakt. II, 312, Über Antagonismus unter den Bakterien.

53. Sayka, Zentralbl. f. Bakt. II, 8.

54. Hoffmann, Bakterien und Hefen in der Praxis des Landwirtschaftsbetriebes. Berlin 1899.

55. Lemmermann, Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge. Jena 1900.

56. Pfeiffer u. Lemmermann, Landwirtschaftl. Versuchsstationen, Jahrgang 1900.

57. König, Der Kreislauf des Stickstoffs.

58. E. Heiden, Leitfaden der gesamten Düngerlehre und Statik des Landbaues. 2. Aufl., 1882.

59. Fr. Holdefleiß, Untersuchungen über den Stallmist. 2. Aufl. Breslau 1889; und Neue Untersuchungen über die Zersetzung des Stallmistes und über die Konservierung desselben. 1889.

60. Wagner, Hessische landwirtschaftl. Zeitschr. Jahrg. 70, Nr. 32; und der Landbote, Jahrg. 21, Nr. 27.

61. Gerlach, Landwirtschaftl. Zentralbl. für die Provinz Posen. Jahrg. 28, Nr. 22.

62. Stutzer und Hartleb, Zentralbl. f. Bakt. II, Abt. 3. 1897.

63. Winogradsky, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 3. 1897.

64. Krüger und Schneidewind, Landwirtschaftl. Jahrbücher 1900, Heft 5; und Österr.-Ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie. Jahrg. 29, Heft 6.

65. Dietzel, Versuche über die Konservierung des Stallmistes.

66. Pfeiffer, Franke, Götze und Thurmann, Beiträge zur Frage über die bei der Fäulnis stickstoffhaltiger organischer Substanzen eintretenden Umsetzungen.

67. Aeby, Dorsch, Matz und Wagner, Forschungen über den relativen Düngerwert und die Konservierung des Stallmiststickstoffes. Die landwirtschaftl. Versuchsstationen Bd. XLVIII, 1897.

68. Theiler, Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1898, S. 205.

69. Celli, Referat in den Österreichischen Monatsheften 188, S. 314.

70. Hecker, Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1899, Nr. 1.

71. Semmer-Raupach, Im Friedberger und Fröhner, 1900. II. Bd., S. 698.

72. Nocard, Annales de l'Institut Pasteur 1898. Bd. XIII.

Untersuchungen über die bakterielle Flora des Hammeldarms auf das Vorkommen von Bakterien der Hog-Choleragruppe.

Von

Dr. Paul Andrejew,

Magister der Veterinär-Medizin (Rußland), früherem freiwilligen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Uhlenhuth (1) hat auf Grund seiner Befunde von Bakterien der Hog-Choleragruppe bei gesunden Schweinen die Notwendigkeit betont, einmal planmäßig festzustellen, ob auch sonst bei Tieren solche Bakterien normalerweise im Darme vorkommen. Derartige Untersuchungen sind für die bakteriologische Beurteilung der Fleischvergiftungen, sowie auch unter Umständen für die Epidemiologie des Paratyphus von besonderer Wichtigkeit, denn nur dann ist es möglich, ein Urteil abzugeben, wenn man genau über die normal im Darminhalt vorkommenden Bakterien unterrichtet ist. Es hat sich nach den Untersuchungen von Uhlenhuth, Hübener (1, 2), Rimpau (3), Schern (4) usw. gezeigt, daß zur Gruppe der Hog-Cholera gehörige Bakterien z. B. außer bei Schweinen im Darmkanal von Ratten, Kälbern, Menschen usw. vorkommen können. Einer Anregung von Herrn Geheimrat Uhlenhuth folgend habe ich den Darminhalt von Hammeln auf das Vorkommen von Bakterien der Hog-Choleragruppe untersucht.

Als Material für die vorliegenden Untersuchungen diente der Darminhalt von 300 frisch geschlachteten und nach vorgenommener tierärztlicher Untersuchung für gesund erklärten Hammeln.

Die Entnahme geschah sofort nach dem Schlachten auf dem Berliner Zentral-Schlachthofe — unter Beachtung aseptischer Kautelen — und zwar an der Übergangsstelle des Dünndarms in den Dickdarm. Dabei wurde so verfahren, daß jedesmal eine Platinöse in ein Röhrchen mit 10 ccm steriler Nährbouillon übertragen wurde. An diesem wurden dann — nach der Verbringung in das Laboratorium — nach etwa 2 Stunden, oder auch erst nach Aufbewahrung der Röhrchen während 24 Stunden im Eisschrank, Oberflächenausstriche in Petrischalen auf Drigalski- und Malachitgrünagar (Loeffler) angelegt.

Die auf diesen Nährböden gewachsenen, auf Paratyphusbazillen verdächtigen Kolonien wurden abgestochen und davon nochmals je eine Drigalskiplatte angelegt. Erst von diesen abgeimpfte isolierte blaue Kolonien dienten als Ausgangsmaterial für die weiteren Prüfungen.

Zur Identifizierung der gewonnenen Kulturen wurden sie auf folgende Nährböden übertragen:

Milch, Lackmusmolke, gewöhnliche Bouillon, Bouillon mit Trauben- und Milchzucker (in Gärungsröhrchen).

Hierbei fanden sich mehrere (39) Stämme, die Milchzucker vergoren oder Lackmusmolke röteten, ohne daß nachträglich Alkalibildung eintrat, also Stämme, die sich kulturell nicht wie die in Frage stehende Gruppe der Hog-Cholera-Bazillen verhielten.

Diese Stämme wurden nicht so genau wie die anderen, weiter verfolgt. (Von ihnen handelt der II. Teil dieser Arbeit). Sämtliche sonst gewonnenen Kulturen — im ganzen 12 — wurden aber eingehend studiert. (I. Teil).

Ta

Stamm-Nr.	Form	Beweglichkeit	Färb. nach Gram	Drigalski Agar	Malachitgrün Agar	Endo Agar	Milch	Lackmusmolke	Bouillon		Barsiekow		Löffler-Lösung	
									Mz.	Trz.	Mz.	Trz.	Typhus	Paraty.
8	Stäbchen mit abgerundeten Enden	+	—	blau	+, entf.	+, entf.	—	blau	—	+	—	+	+	gelb
17		+	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
30		+	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
85		—	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
29		+	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
81		—	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
276		+	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
7		+	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
5		—	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
11		—	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
14		—	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„
24		—	—	„	„	„	—	„	—	+	—	+	+	„

Zeichenerklärung:

Malachitgrün Agar / Endo „ } +, entf. = Bakterien gewachsen, Nährboden entfärbt.

Milch: — = nicht geronnen.

Bouillon: a) Mz. (Milchzucker): — = keine Gasbildung, aber Nährboden trübe.
b) Trz. (Traubenzucker): + = Gasbildung; Nährboden trübe.

Barsiekow: a) Mz. (Milchzucker): — = Nährboden trübe; kein Gas und nicht koaguliert.
b) Trz. (Traubenzucker): + = Säurebildung, Gasbildung und Koagulation.

Löfflersche Grünlösungen: Ty (Typhuslösung): + = Vergärung unter Schaumbildung.
Para (Paratyphuslösung): gelb = Entfärbung (gelbe Farbe).

Hetsch. und andere Nährboden mit Kohlenhydraten: + = Gas, Säurebildung und Koagulation.

Dextrin: —, S. = nur Säurebildung; keine Koagulation und keine Gasbildung.

Neutralrot: + = Entfärbt, opaleszierend und Gasbildung.

Orcein: + = Entfärbt und Gasbildung.

Gelatine: — = nicht verflüssigt.

Prot. chr. = Proteinochromreaktion.

Kreat. = Kreatininreaktion.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß sich alle 12 gewonnenen Stämme ihrer Form sowie der Färbbarkeit nach Gram nach, außerdem bei der kulturellen Prüfung in folgenden Nährböden: Drigalski-Agar, Malachitgrün-Agar, Endo-Agar, Rothberger-Agar, Orcein-Agar, Gelatine, Bouillon, Milch, Lackmus-

Hierbei wurden folgende Untersuchungsverfahren angewendet:

1. Die mikroskopische Untersuchung auf Form, Beweglichkeit und Färbbarkeit nach Gram.
2. Die Prüfung auf das kulturelle Verhalten in verschiedenen Nährmedien.
3. Die Agglutinationsprüfung.
4. Die Pathogenitätsprüfung.

Die Ergebnisse der zu 1 und 2 angestellten Versuche sind aus der folgenden Tabelle I ersichtlich:

belle I.

Hotsch.	Lentz	Dulcit	Saccharose	Maltose	Galaktose	Arabinose	Xylose	Dextrin	Asparagin	Neutr. rot Agar	Orcein Agar	Gelatine	Indol	Prot. chr.	Kreat.
+	+	+	−	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+
+	+	+	−	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+
+	+	+	−	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+
+	+	+	−	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	−	+
+	+	+	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	−	+
+	+	+	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	−	+
+	+	+	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	−	+
+	+	+	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	−	+
+	+	−	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+
+	+	−	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+
+	+	−	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+
+	+	−	+	+	+	+	+	—, S.	−	+	+	−	+	+	+

molke, beide Löfflerschen Grün-Lösungen: Löffler-Typhus-Lösung, Löffler-Paratyphus-Lösung, Barsiekow-Traubenzucker, Barsiekow-Milchzucker, Barsiekow-Dulcit, Barsiekow-Arabinose, Barsiekow-Xylose, Barsiekow-Saccharose, Barsiekow-Dextrin, Barsiekow-Asparagin, verdünntes Rinderserum mit Dulcit, mit Maltose, mit Galaktose — wie Bac. Paratyphus B, bezw. Bac. Enteritidis Gärtner verhielten.

Die Prüfungen auf Indol und Kreatinin fielen bei sämtlichen Stämmen — wenn auch in der Stärke der Reaktion etwas wechselnd — positiv aus.

Nach dem Ergebnis der Indolprüfung wären daher sämtliche gewonnenen Kulturen von den Bazillen der Hog-Cholera-Gruppe abzutrennen, da nach Angabe fast sämtlicher Autoren diese Bakterien kein Indol bilden.

Es zeigte sich aber, daß bei der von mir angewendeten Methodik der Prüfung auf Indol auch alle mir sonst zur Verfügung stehenden Stämme der Hog-Cholera-Gruppe positive Reaktion gaben[1]). Es ist daher eine Abtrennung unserer Stämme von der Hog-Cholera-Gruppe aus diesem Grunde nicht begründet.

[1]) Anmerkung. Auch alle im Kaiserl. Gesundheitsamte zur Verfügung stehenden Typhusstämme gaben nach dem von mir angewendeten Verfahren geprüft, „Indol-Reaktion“, zum Teil allerdings erst nach 3wöchigem Wachstum.

Ich verfahre nach der Vorschrift von Arnoldoff (5) folgendermaßen:

In einem Röhrchen mit 10 ccm einer 7—12tägigen Kultur in 1 % Pepton-Witte-Wasser wird 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugegeben und geschüttelt. Hierauf wird vorsichtig 1 ccm 0,01 %ige Kaliumnitritlösung darübergeschichtet. An der Berührungsstelle entsteht bei positivem Ausfall der Probe ein mehr oder weniger rosa bis rot gefärbter Ring.

Ob diese Reaktion auf dem tatsächlichen Vorhandensein von Indol beruht, oder ob die „Indolreaktion" hier nicht durch andere Substanzen bedingt ist, müßte auch noch rein chemisch untersucht werden.

Ebenso würden nach dem Ergebnis der Kreatininprüfung die von mir isolierten Stämme der Hog-Choleragruppe abzutrennen sein; denn nach den Angaben der Autoren ist auch diese Reaktion bei den Bazillen der in Frage stehenden Gruppe negativ. Bei meinen diesbezüglichen Nachprüfungen fand ich aber, daß auch typische Vertreter der Hog-Choleragruppe positive Kreatininreaktion gaben (und zwar waren dies durchgehend Stämme, die starke „Indolreaktion" gaben), sodaß also die diesbezüglichen Angaben der Autoren nicht zu Recht bestehen. Unsere Stämme könnten daher nach dem Ausfall der Kreatininreaktion durchaus zur Hog-Cholera-Gruppe gehören.

Die Weylsche Kreatinin-Reaktion wurde genau nach der Vorschrift von Nina Antonoff (6) ausgeführt.

Zu 10 ccm der Kulturen (in 2 % Peptonwasser mit ½ % NaCl), — welche zuerst eine Stunde lang im Dampfstrom gehalten werden, um das etwa vorhandene leichtflüchtige Azeton zu entfernen (da auch Azeton einen positiven Ausfall der Reaktion bedingt) — werden 3 ccm einer 15 %igen Ätznatronlösung und darauf 0,5 ccm einer frisch bereiteten 10 %igen Nitroprussidnatriumlösung hinzugefügt. Bei Anwesenheit von Kreatinin nimmt die Flüssigkeit eine rubinrote Farbe an. Nach Ansäuern mit Essigsäure wird die Flüssigkeit grünlich und allmählich blau (Gutkowskische Reaktion).

Ähnlich wie mit der Indol- und Kreatininbildung verhält es sich mit der Proteinochrom-Reaktion, die für die Hog-Choleragruppe als positiv angegeben wird, bei den von mir isolierten Stämmen aber verschieden, bald positiv, bald negativ ausfiel. Ich habe daher auch hier typische Vertreter der Gruppe untersucht.

Das Ergebnis war aber ebenfalls ein wechselndes. Auch nach dem Ausfall der Proteinochrom-Reaktion könnten also unsere Stämme zur Hog-Cholera-gruppe gehören.

Zur Prüfung verfuhr ich nach der Vorschrift von Erdmann und Winternitz (7).

Zwölf Tage alte Kulturen in 5 %iger Peptonbouillon wurden mit Essigsäure leicht angesäuert (1—3 Tropfen von Essigsäure) und dann mit etwas Chlorwasser (frisch bereitetem) überschichtet. Rosenrot bis rotviolette Färbung zeigt positive Proteinochrom-Reaktion an.

Von 33 Stämmen Bac. Suipestifer, die von Uhlenhuth sowohl aus gesunden, wie auch aus an Schweinepest erkrankten Schweinen gewonnen waren, gaben alle, wenn auch in verschiedenem Grade, positive Indolreaktion; 6 von ihnen gaben eine sehr starke, 17 eine mittelstarke Reaktion, während 10 nur schwache Indolreaktion erkennen ließen.

Alle 6 Stämme Bac. Suipestifer, die starke Indolreaktion haben, bildeten auch Kreatinin, die andern Stämme dagegen nicht.

Was die Proteinochrom-Reaktion anlangt, so war sie bei sämtlichen Stämmen positiv mit Ausnahme von 5 Stämmen und zwar gerade solcher, die starke Indolreaktion gaben.

Von 27 Stämmen, Bac. Paratyphus B, die von mir untersucht wurden, gaben 5 starke Indolreaktion, 17 eine mittelstarke und 5 erzeugten nur eine schwache Indolreaktion.

Von 5 Stämmen Bac. Paratyphus B, die sehr beträchtliche Mengen Indol bildeten, zeigten 2 positive Kreatinin-Reaktion, bei allen andern Stämmen des Bac. Paratyphus B war diese Reaktion aber negativ.

Die Eigenschaft der Proteinochrombildung war, ebenso wie bei den Bac. Suipestifer-Stämmen im allgemeinen positiv. Dagegen fiel sie bei 3 von den 5 Stämmen, die stark Indol bildeten, nur schwach und bei 2 ganz negativ aus.

Von 8 untersuchten Enteritidis Gärtner-Stämmen zeigten alle positive Indol-Reaktion. Keiner von ihnen bildete Kreatinin, dagegen alle Proteinochrom.

Ähnlich den Bac. Enteritidis Gärtner verhielten sich sowohl Bac. Paratyphus C (Uhlenhuth, Stamm Prenzlau), wie auch 4 Kulturen der Bazillen Paracoli Jensen (105, 107, 110 u. 126).

Nach dem Ergebnis dieser Prüfungen darf man daher wohl annehmen, daß bei der Vergrößerung der Fähigkeit, Proteinochrom zu bilden, die Fähigkeit der Bildung sowohl von Indol, wie auch Kreatinin sich vermindert und umgekehrt, wobei manchmal zwischen der Indol- und Kreatininbildung ein Parallelismus der Stärke der Reaktion zu bemerken ist.

Was die anderen biologischen Reaktionen der von mir isolierten 12 Stämme anlangt, so verhielten sich 3 der Stämme (30, 17, 8) durchaus wie typische Vertreter der Paratyphus B- und Gärtner-Gruppe. Bei den anderen 9 (85, 29, 81, 276, 7, 5, 11, 14, 24) ergaben sich einige Unterschiede. So waren 6 (85, 81, 5, 11, 14, 24) unbeweglich, 4 zersetzten Dulcit nicht (5, 11, 14, 24) und 8 zersetzten Saccharose (29, 81, 276, 7, 5, 11, 14, 24).

Diese 9 Stämme würden also im allgemeinen nicht zur Paratyphus- und Gärtnergruppe gerechnet werden können, wenn nicht durch weitere eigene Beobachtungen bzw. einzelne Angaben der Literatur uns auch bei als „typisch“ bezeichneten Kulturen der Paratyphus B- und Gärtner-Gruppe ähnliche Ausnahmen bekannt wären.

So sind nach den Angaben von Bahr, Raebiger und Grosso (9) die Ratinbazillen allerdings bei Wachstum auf Cibils-Laktose-Agar unbeweglich.

Ebenso konnten Lehmann und Neumann (10) bei Bac. Sanarelli (dem Bac. suipestifer identisch) keine Eigenbewegung beobachten. Auch Hottinger (11) macht ähnliche Angaben. So sagt er: „Neben der sonst konstant zu beobachtenden Beweglichkeit des Bac. Suipestifer wurde eine unbewegliche Rasse beschrieben.“

Was die Vergärung der Kohlehydrate durch verschiedene Paratyphus B-Stämme anlangt, so haben die verschiedenen Forscher für einzelne Kohlehydrate oft ziemlich voneinander abweichende Ergebnisse bekommen.

So z. B. im Gegensatz zu den anderen Autoren, haben Kayser (12), Korte (13), Vourloud (14) Laktosevergärung durch Bac. Paratyphus B beobachtet.

„Die Angaben betreffend der Laktosevergärung, der Reaktion der Lackmusmolke bei Bac. Suipestifer — sagt Hottinger — weisen darauf hin, daß auch hier Übergänge bestehen, denn in einem Falle finden wir bleibende Säuerung, in anderen, und wohl der Mehrzahl, erst leichte Säuerung und Übergang zur alkalischen Reaktion.“

Nach Segin (15) bilden Paratyphus Brion Kayser und Paratyphus Stamm Pelzer in Barsiekow-Milchzuckernährboden Säure.

„Voges und Proskauer nennen eine Form Schweinepest, die alle Zuckerarten vergärt“ (Lehmann und Neumann).

Nach Hottinger ist die Annahme, daß Bac. Suipestifer Milchzucker nicht vergäre, nicht allgemein gültig.

Nach Segin vergären Paratyphus B, Schottmüller und Paratyphus B Stamm Pelzer Barsiekow-Maltose nicht.

Nach Untersuchungen von Mac Conkey (16) und Zeller (17) vergärt ferner auch Bac. coli (Escherich) Dulcit, während nach Segin Paratyphus B (Stämme: Bremen, Brion, Schottmüller und Pelzer) Dulcit nicht zersetzt. Ich selbst fand bei Paratyphus B Lassan (Löffler) keine Dulcitzersetzung; ebenso wurde solche nicht beobachtet bei einigen von Uhlenhuth und Hübener aus gesunden Schweinen isolierten und von mir untersuchten Bac. Suipestifer-Stämmen.

Nach Vourloud wird Saccharose durch Paratyphus B vergoren. Bei meinen Prüfungen wurde ebenfalls Saccharose zersetzt von Paratyphus B Neunkirchen (Stamm des Kaiserl. Gesundheitsamtes), ebenso von einigen der Uhlenhuthschen Suipestiferstämme.

Wenn man den Angaben in der Literatur folgt, so würde man vielleicht doch auch berechtigt sein können, die anderen 9, ebenso wie die 3 erwähnten Stämme nach Ausfall der kulturell-biologischen Reaktionen zur Paratyphus B- bezw. Gärtner-Gruppe zu rechnen.

Weiterhin wurden die 12 von mir isolierten, biologisch genau studierten Stämme auf Agglutination mit spezifischen Seris geprüft. Hierzu wurden folgende Sera verwendet:

1. Hog-Cholera Esel-Serum a) Titer 1 : 3000,
   b) Titer 1 : 5000,
2. Paratyphus B-Serum von Esel-Titer 1 : 5000,
3. Psittacosis-Serum von Kaninchen Titer 1 : 1000,
4. Polyvalentes Schweinepestserum (von Gans),
5. Enteritidis Gärtner-Serum Titer 1 : 1000.

Die Beobachtung geschah makroskopisch nach zweistündiger Aufbewahrung bei 37°.

Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle II (Seite 369).

Es ergab sich also, daß die von mir geprüften Kulturen durch die verwendeten Sera im allgemeinen nur verhältnismäßig schwach agglutiniert wurden; nur das Hog-Cholera-Serum (Titer 1 : 3000) zeigte fast durchgehends etwas höhere Werte, ebenso wie die Stämme 30, 81, 29, 276, wenigstens von jedesmal 2 Seris etwas höher agglutiniert wurden.

Wenn man nun auch hier sich wieder an die Angaben in der Literatur hält, so würde dieses Ergebnis im einzelnen Falle nicht dagegen sprechen, daß die in Frage stehenden Stämme zur Paratyphus B-Gruppe gehören. So sei z. B. auf die Arbeit von Trommsdorff (18) verwiesen, der bei seinen umfassenden Agglutinationsprüfungen eine derartige Menge von Abweichungen der zumeist beobachteten Agglutinationsergebnisse beobachtete, daß er den Schluß zog, daß die Agglutinationsprüfung zur Differenzierung der in Frage stehenden Gruppe nur höchst unsichere Ergebnisse liefere. Trotzdem kam er zu einer Abtrennung des Bac. Enteritidis von den übrigen Bakterien der Hog-Cholera-Gruppe (Bac. Para-

Tabelle II.

Stamm-Nr.	Sera: Hog Esel-Cholera Titer 1 : 3000	Hog Esel-Cholera Titer 1 : 5000	Paratyphus B (Esel) Titer 1 : 5000	Psittacos. Titer 1 : 1000	Gärtner Titer 1 : 1000
30	500	600	500	200	—
17	200	—	—	400	200 (400)
8	—	100	—	—	—
85	400	100	—	—	—
29	200	400	100	400	100
81	600	400 (600)	—	50 (100)	—
276	400	400	—	—	—
7	400	100	—	—	—
5	100	100	—	—	—
11	100	100	—	—	—
14	200	—	—	—	—
24	200	—	—	—	—

typhus B, Suipestifer, Mäusetyphus usw.) und zur Annahme mehrerer Gruppen unter den Paratyphus B- und Schweinepestbazillen.

Als Beispiele seien aus seiner großen Tabelle einige Reihen ausgezogen.

Auszug aus der Agglutinationstabelle von Trommsdorff.

Bazillen	Sera: Paratyphus B Schottmüller Titer 1:40000	Suipestifer Kral Titer 1 : 5000	Suipestifer Dieudonné Titer 1 : 2500	Enteritidis Bonhoff Titer 1:5000	Enteritidis Gärtner E. 1:40000	Mäusetyphus 1:2500	Mäusetyphus 1:40000
Paratyphus B							
Schottmüller	40 000	1280	0	0	0	2500	20 000
Saarbrück.	10 000	80	0	0	0		
Neisser	640	5000	0	**5000**	**2500**	2500	40 000
Suipestifer							
Kral	40 000	5000	20 (40)	**5000**	**40 000**		
Neisser	640	2500	320	**5000**	**2500**		
Schubert	320	2500	160	**5000**	0		
Ostertag	320	5000	40	20	**2500**		
Smith	160	2500	160	**5000**	**2500**		
Dieudonné	20	320	2500	320	0		
Mäusetyphus							
Pf. I.	640						
Pf. II.	640						
Kitt	160						
Bonhoff	160						
Kral	160						
Schwarzlose	80						
Aerthryk	20						
Psittacosis	320		320	**5000**	0	2500	40 000
Enteritidis							
Gärtner	20		20	5000	40 000		**40 000**

Zur Erklärung dieser höchst merkwürdigen Tatsachen nimmt Trommsdorff an, daß es am wahrscheinlichsten ist, „daß sich bei den verschiedenen Tierindividuen eine verschiedene Reaktion in bezug auf die Bildung von Agglutininen findet", eine Ansicht, die namentlich mit Rücksicht auf unsere sonstigen Kenntnisse über Antikörperbildung, z. B. der Präzipitine (Uhlenhuth), wohl als richtig angesehen werden darf.

Auch hierfür seien aus seinen Versuchen zwei Beispiele angeführt.

(Auszug aus der Tabelle von Trommsdorff.)

Bazillen Stamm	Serum			
	Mäusetyphus			
	Stamm Pf. 1.		Stamm Kitt	
	Kaninchen A.	Kaninchen B.	Kaninchen A.	Kaninchen B.
Enteritidis				
Gärtner E	40 000	—	166	—
„ D	—	—	—	—
Bonhoff	40 000	—	—	—
Kral	—	—	—	—
Paratyphus B				
Saarbrücken	160	2500	40 000	—
Neisser	40 000	2500	40 000	40 000

Weiter wurde die **Pathogenität** der 12 in Rede stehenden Stämme geprüft[1])

1. Fütterungsversuche.

Weiße Mäuse wurden mit 24 stündigen Bouillon-Kulturen — auf trockenes Weißbrot gegossen — gefüttert. Obgleich die Fütterung täglich während 10 Tagen vorgenommen wurden, blieben alle Mäuse vollkommen gesund und munter.

2. Subkutane Injektion.

Weißen Mäusen wurden je $^1/_{20}$ Öse und Meerschweinchen (300—350 g) je 1—2 Öse von Agar-Kultur subkutan eingespritzt. Alle Tiere sind lebend geblieben. Bei jeder Injektion größerer Dosen bis zur ganzen Öse treten starke Hautnekrosen ein; die meisten Tiere blieben am Leben, bei einigen eingegangenen ist der Tod vielleicht infolge sekundärer Infektion eingetreten.

3. Intraperitoneale Injektion.

Meerschweinchen wurden je $^1/_2$ Öse 24^h Agar-Kultur in 0,85 %igem NaCl eingespritzt. Mit Ausnahme der Kulturen 5, 14 und 29 riefen alle den Tod der Versuchstiere nach 1 bis 2 Tagen hervor. Bei Einspritzung von 2 Ösen töteten auch die Kulturen 5, 14 und 29 die betr. Tiere.

Ferner wurden alle diese Stämme intraperitoneal an weißen Mäusen geprüft und erwiesen sich bei Injektion von $^1/_2$ Öse als tödlich.

Der Obduktionsbefund war folgender: Peritonitis mit serös-eitrigem oder serös-hämorrhagischem Exsudat; Leber dunkelrot, mit eitrigem Belag.

---

[1]) Anmerkung. Für jede der angewendeten Prüfungen wurde je ein Tier für je einen Stamm verwendet.

Mit Blut aus dem Herzen und der Leber wurden Drigalski-Platten beschickt. Auf allen Platten wuchsen blaue Kolonien. (Gelegentlich daneben auch rote, nicht weiter untersuchte, vermutlich Coli-Kolonien). Die blauen Kolonien erwiesen sich bei vorgenommener Prüfung als dieselben Bakterien, die zur Impfung verwendet worden waren. (Mikroskopische Untersuchung, kulturelles Verfahren auf verschiedenen Nährboden und Agglutination).

Die 12 Stämme ließen also sämtlich bei Fütterungsversuchen an weißen Mäusen eine Pathogenität nicht erkennen, ebenso nicht bei subkutaner Injektion bei weißen Mäusen, wie Meerschweinchen; dagegen töteten sie sämtlich Meerschweinchen und weiße Mäuse bei intraperitonealer Einverleibung unter dem Bild des Sepsis.

Endlich wurden die 12 gewonnenen Stämme auf Toxinbildung geprüft.

Einen Monat alte Bouillon-Kulturen wurden, nachdem sie vorher wieder mit Bouillon auf das alte Volumen aufgefüllt waren, durch Berkefeldfilter geschickt. Von den Filtraten wurden weißen Mäusen je 2 ccm subkutan injiziert. Alle Mäuse blieben am Leben.

Nach dem Ausfall der zuletzt angegebenen Prüfungen verhielten sich also die Stämme im allgemeinen anders als man es sonst bei der Paratyphus B- und Enteritidis Gärtner-Gruppe, deren Vertreter zumeist — namentlich bei Fütterungsversuchen an weißen Mäusen — durchaus pathogen sind und die Fähigkeit haben, Toxine zu bilden.

Allerdings finden sich über die Virulenz- und Pathogenitätsverhältnisse der Bazillen der Hog-Cholera-Gruppe auch verschiedene Angaben in der Literatur. So schreiben z. B. Hottinger (12): „Eine spezifische Pathogenität finden wir mehr oder weniger ausgesprochen nur bei einigen Gliedern dieser Gruppe"; Uhlenhuth und Hübener (2): „Alle Bakterien der Paratyphus B-Gruppe sind in gewissem Grade an sich mehr oder weniger für Mäuse pathogen. Doch gibt es Stämme, die vollkommen apathogen waren oder geworden sind und so verändert werden können, daß sie Mäuse unter dem Bilde des Mäusetyphus töten"; Kolle und Hetsch (19): „Es gelingt durch Mäusepassagen den menschlichen Paratyphus-Kulturen solche Virulenz zu verleihen, daß sie Mäuse durch Verfütterung töten."

Fütterungsversuche mit Paratyphuskulturen an Mäusen und Meerschweinchen fielen bei Korte durchgehends negativ aus.

Bei Charakterisierung der „Josarceae"-Gruppe (Fleischvergiftungsbakterien) sagt Löffler (20), daß Bac. Paratyphi B bei Verfütterung nur Mäuse, aber auch nicht immer tötet. Bezüglich Giftbildung seien folgende Angaben Zellers (17) wiedergegeben: „Korte sowie Kutscher und Meinicke (21) ist es nicht gelungen, mittels Bouillon- und Agarkulturen, welche durch Erhitzung keimfrei gemacht waren, desgl. nicht mittels keimfreier Bouillonkulturfiltrate, Mäuse und Meerschweinchen zu töten. Conradi, Drigalski und Jürgens (22) gelangten ebenfalls zu negativen Ergebnissen bei Verimpfung von Kulturen, welche in 0,85%igem NaCl aufgeschwemmt und durch Chloroformdämpfe abgetötet worden waren".

Ferner, nach seinen eigenen Untersuchungen: Aus 40 Meerschweinchen, welche mit 1,5 und 2,0 ccm von 24stündigen Bouillonkulturen intraperitoneal geimpft worden waren, sind 6 gestorben, aber 3 davon hatten eine alte Pneumonie, 2 hochgradige allgemeine Tuberkulose und 1 war hochtragend. Die übrigen Meerschweinchen blieben am Leben. „Nach diesem Ergebnis, sagt Zeller (17), ist den von mir untersuchten Paratyphusstämmen das Vermögen, hitzebeständige Toxine zu bilden, abzusprechen."

Es ist also wohl nach dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse ungerechtfertigt, Stämme, die man sonst — kulturell-biologisch und agglutinativ — zur Paratyphus-B.-bezw. Enteritidis-Gruppe rechnen würde, ausschließlich auf Grund nicht vorhandener typischer Pathogenität und mangelnder Fähigkeit, Toxine zu bilden, von der Zugehörigkeit zu dieser Gruppe auszuschließen.

Wenn wir unsere Stämme nun genau betrachten, so zeigen sie von den bekannten Eigenschaften der Paratyphus B resp. Gärtner doch manche Abweichungen. Bei oberflächlicher Untersuchung würde man sie ohne weiteres zu den Paratyphus B bezw. Gärtner rechnen.

Jedenfalls gehören sie in die große Gruppe der Hog-Cholera-Bazillen, wenn sie auch auf Grund der kulturellen und biologischen Merkmale einige Besonderheiten zeigen. Derartige Stämme dürften ein hohes praktisches Interesse beanspruchen. Jeder, der sich mit der Ätiologie der Fleischvergiftungen beschäftigt, muß sie kennen, zumal da wir sie im Darm gesunder Schlachttiere nachgewiesen haben.

II. Teil.

Als Grundlage zu seiner Klassifikation von Bakterien der Coli-Typhusgruppe wurde von Löffler (20), wie bekannt — neben der Agglutination —, die durch diese Bakterien hervorgerufene Veränderung der „Typhus-" und „Paratyphus"-Malachitgrün-Lösungen gewählt. Hierbei soll die Typhus-Lösung durch „Fleischvergiftungsbakterien" unter Gasbildung koaguliert werden und die grüne Farbe der Paratyphus-Lösung in gelb umschlagen. Das Koagulieren dieser letzteren Lösung soll nur dann erfolgen, wenn darin Bac. Coli kultiviert werden.

Wir haben nun bei der Untersuchung der aus dem Darme von gesunden Hammeln isolierten Bakterienstämme, welche auf Drigalski-Agar als blaue durchscheinende Kolonien gewachsen waren — abgesehen von den 12, im ersten Teil dieser Arbeit beschriebenen, von uns der Gruppe der Paratyphus B.- bezw. Enteritidis-Gärtner-Bakterien zugerechneten Stämmen — des weiteren eine Anzahl Bakterien gefunden, die, wie zu Anfang gesagt, sich in Milch, Lackmusmolke und mit Milch- und Traubenzucker versetzter Bouillon nicht wie die Bakterien der Fleischvergiftungsgruppe verhielten.

Wir haben diese Bakterien — es handelte sich ausschließlich um gramnegative, Coli-ähnliche Stäbchen — die wohl als „Zwischenformen" der Coli-Typhus-Gruppe zu bezeichnen wären, aber weiter biologisch verfolgt, weil sie doch ein gewisses

differential-diagnostisches Interesse darboten, wegen ihres Wachstums auf Drigalski-Agar; sie sollen im folgenden jedesmal in Gruppen je nach einer oder zwei charakteristischen Eigenschaften aufgeführt werden.

Gruppe A.

Wachstum in den beiden Löfflerschen Grünlösungen typisch.

I.

Milch nicht geronnen.
Milchzucker schwach zersetzt (Barsiekow rot, aber nicht koaguliert).

Tabelle III.

Stamm-Nr.	Milch	Lackmusmolke	Endo	Barsiekow nach 8 Tagen		Löffler-Lösung		Hetsch	Dulcit	Saccharose	Indol	Prot. chrom	Kreatinin	Beweglichkeit
				Mz.	Trz.	Ty.	Para.							
111	—	viol.	±	—, S.	+	+	gelb	+	—	+	+	—	+	
126	—	„	±	—, S.	+	+	„	+	—	—	+	—	+	+
118	—	blauviol.	—	—, S.	+	+	„	+	—	—	+	—	+	
272	—	viol. rot	—	—, S.	+	+	„	+	—	—	+	—	+	
282	—	„	—	—, S.	+	+	±	+	—	—	+	—	+	
284	—	„	—	—, S.	+	+	gelb	+	—	—	+	—	+	
293	—	rotviol.	—	—, S.	+	+	„	+	—	+	+	—	+	
296	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	—	+	+	—	+	
297	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	—	—	+	—	+	
10	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	—	—	+	+	+	
41	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	+	—	+	—	+	
50	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	+	—	+	—	+	+
26	—	„	±	—, S.	+	+	„	+	+	—	+	+	+	
68	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	+	—	+	—	+	+
115	—	„	—	—, S.	+	+	„	+	+	—	+	—	+	

Lackmusmolke: viol. = violett.
Endo: ± = zuerst etwas rote Färbung des Nährbodens; später Entfärbung.
— = Entfärbung des Nährbodens und schwach rosa Kolonien.
Barsiekow: Mz. (Milchzucker): —, S. = keine Nutrosekoagulierung; nur Säurebildung.
„ Trz. (Traubenzucker): + = Säurebildung und Nutrosekoagulierung.

Die in Tabelle III angeführten Stämme können wieder in 2 größere Gruppen geteilt werden:

a) Dulcit zersetzend (41, 50, 26, 68, 115).

b) Dulcit nicht zersetzend (111, 126, 118, 272, 282, 284, 293, 296, 297, 10).

Jede der beiden Untergruppen enthält wieder Vertreter mit verschiedenen Eigenschaften, die Gruppe a insbesondere viele, die in Lackmusmolke nur wenig Säure bilden.

II.

Milch geronnen. Milchzucker zersetzt (Barsiekow geronnen).

Tabelle IV.

Stamm Nr.	Milch	Lackmusmolke	Endo	Barsiekow		Löffl. Lös.		Hetsch	Dulcit	Saccharose	Indol	Prot. chrom	Kreatinin	Beweglichkeit
				Mz.	Trz.	Ty.	Para							
52	+	rot	—	+	+	+	gelb	+	—	+	—	+	—	+
56b	+	„	—	+	+	+	„	+	—	+	—	+	—	+
37	+	„	+	+	+	+	„	+	—	+	—	+	—	+
47	+	„	+	+	+	+	„	+	—	+	—	+	—	+
53	+	„	+	+	+	+	„	+	—	+	—	+	—	—
60	+	„	+	+	+	+	„	+	—	+	—	+	—	—

Als charakteristisch ist bei den Bakterien dieser Gruppe ihr Verhalten gleich typischen Vertretern der Hog-Cholera-Gruppe auf Indol-, Kreatinin- und Proteinochrombildung zu bezeichnen. Im übrigen zeigen die einzelnen Stämme wieder manigfache Differenzen.

Gruppe B.

Wachstum in den beiden Löfflerschen Grünlösungen atypisch.

I.

Milch geronnen, aber Barsiekow-Milchzucker nicht zersetzt.

Tabelle V.

Stamm Nr.	Milch	Lackmusmolke	Barsiekow		Hetsch.	Löffler-Lösung		Drigalski
			Mz.	Trz.		Ty.	Para.	
87	+	rot	—	+	—	+	gelb	blau
114	+	rotv.	—	+	—	+	grgelb	„
3	+	rot	—	+	—	+	grün	„
69	+	rotv.	—	+	—	+	gr. oplsz.	„
28	+	„	—	+	—	+	oplsz.	„
66	+	rot	—	+	+	+	gelb Mtr.	„

gelb Mtr. = gelb und Milchtrübe.
oplsz. = etwas opaleszierend.
gr. = grün.
glb. = gelb.

Von sämtlichen Stämmen dieser Gruppe zeigte nur Nr. 66 eine starke Abweichung von den andern; er zersetzte Mannit (Hetsch); alle andern zeigten nur schwache Differenzen (s. Löfflersche Lösungen, Lackmusmolke).

II.

Wachstum in den Löfflerschen Grünlösungen wie bei Typhus.

Tabelle VI.

Stamm Nr.	Milch	Lackmusmolke	Barsiekow		Löffler-Lösung		Hetsch.
			Mz.	Trz.	Ty.	Para.	
13	—	blau	—	+	wie Ty.	gr.	—
124	+	blauviol.	—, S.	+	„	„	?
166	—	rotviol.	—, S.	+	„	„	—

III.
Verschiedenartige Stämme.
Tabelle VII.

Stamm-Nr.	Milch	Lackmusmolke	Endo	Barsiekow		Löffler Lös.		Hetsch	Dulcit	Saccharose	Indol	Prot. chrom	Kreatinin
				Mz.	Trz.	Ty.	Para.						
20	—	rot	+	+	+	+	+	+	—	+	∓	+	—
120	+	rotv.	±	oplsz., S.	+	+	+	—	—	—	∓	+	—
42	+	„	±	„	+	+	+	—	—	—	∓	+	—
57	+	rot	+	—, S.	+	+	+	+	—	—	∓	+	—
44	—	blau	+	+	+	+	+	+	—	+	∓	+	—
1	+	rot	+	—, S.	+	+	+	+	—	+	+	—	+
15	+	„	±	—, S.	+	+	+	+	—	+	+	—	+
58	+	rotv.	±	oplsz., S.	+	+	+	+	—	—	+	—	+
117	+	„	±	—, S.	+	+	+	+	—	—	+	—	+

—, S. = Säurebildung.
oplez. = opaleszenz = schwache Nutrosekoagulierung.
bei Endo-Agar: + = rote Kolonien und rot gefärbte Nährboden.
— = Entfärbung des Nährbodens und schwach rosa Kolonien.
± = zuerst etwas rote Färbung des Nährbodens, später Entfärbung.

Unter den Stämmen dieser Gruppe lassen sich wieder einzelne zu Untergruppen mit ähnlichen Eigenschaften zusammenfassen; kein Stamm gleicht aber völlig einem andern.

a) Indol-, Kreatinin- und Proteinochrom-Reaktion wie bei Bac. Paratyphus B (NN 20, 120, 42, 57, 44).

b) Indol-, Kreatinin- und Proteinochrom-Reaktion wie bei Bac. Coli (NN 1, 15, 58, 117).

Schlußfolgerungen.

Bei der Einsaat des Darminhaltes von 300 gesunden Hammeln auf Drigalski-Agar sind in 51 Fällen blaue Kolonien gewachsen. Die aus diesen Kolonien isolierten Bakterien hatten auch Wachstumsvermögen auf Malachitgrünagar.

Bei der eingehenden Untersuchung dieser blauen Kolonien wurde festgestellt, daß 12 Stämme nach ihren kulturell-biologischen Eigenschaften mit größerer oder geringerer Wahrscheinlichkeit zu der Gruppe der Bazillen der Hog-Cholera-Gruppe zugezählt werden können.

Die übrigen 39 isolierten Bakterien stellten nach ihren kulturell-biologischen Eigenschaften verschiedene Zwischenformen (Übergangsformen) zwischen Bac. Coli und Bac. Paratyphi B dar.

Bei der Anwendung des empfindlichen Verfahrens war die „Indolreaktion“ bei mehreren Bakterien der Hog-Cholera-Gruppe positiv.

Bei der Vergrößerung der Fähigkeit, Proteinochrom zu bilden, vermindert sich die Fähigkeit der Bildung sowohl von Indol, wie auch von Kreatinin und — umgekehrt —

wobei manchmal zwischen der Indol- und Kreatininbildung ein Parallelismus (der Stärke der Reaktion) zu bemerken ist.

Es hat den Anschein, als ob ein Zusammenhang zwischen der Fähigkeit der Milchkoagulierung und der Milchzuckerzersetzung in einigen Fällen nicht existiert.

Literatur.

1. Uhlenhuth, Hübener, Xylander und Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XXVII, Heft 3.

2. Uhlenhuth und Hübener, Über die Verbreitung der Bakterien der Paratyphus B- und Gärtner-Gruppe und ihre Beziehungen zur gastrointestinalen Form der Fleischvergiftungen. Medizinische Klinik 1908, Nr. 48.

3. Rimpau, Deutsche medizinische Wochenschr. 1908, Nr. 24.

4. Schern, Über eine durch den Bacillus enteritidis Gärtner verursachte Rattenseuche. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XXX, Heft 3.

5. M. Arnoldoff, Beiträge zur Lehre über morphologische und biologische Eigenschaften bact. coli communis. Petersburg. Archiv für Veterinär-Wissenschaften 1901, Nr. 4, 5, 6.

6. Nina Antonoff, Über Kreatinin bildende Bakterien. Zentralbl. f. Bakteriologie, XLIII, S. 209.

7. Erdmann und Winternitz, Über die Proteinchromreaktion, eine klinisch und bakteriologisch bisher nicht verwertete Farbenreaktion. Münch. medizin. Wochenschr. 1903, Nr. 23.

8. Bahr, Über die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien. Zentralbl. f. Bakteriologie XXXIX. Bd., S. 263.

9. Bahr, Raebiger und Grosso, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten der Haustiere 1909.

10. Lehmann und Neumann, Lehrbuch der spez. bakteriologischen Diagnostik 1899.

11. Hottinger, Bacillus suipestifer. Spezifitätsfrage. Mikrobiologische Versuche. Zentralbl. f. Bakteriologie. XLVIII, S. 188, XLVII.

12. Kayser, Das Wachstum der zwischen Bakt. typhi und coli stehenden Spaltpilze auf Drigalski-Conradi-Böden usw. Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. XXXI, 1902, S. 426.

12a. Derselbe, Die Bakteriologie des Paratyphus. Zentralbl. f. Bakter. Bd. XXXV, S. 154.

12b. Derselbe, Über den Paratyphus. Deutsche mediz. Wochenschr. 1903, Nr. 18.

13. W. Korte, Ein Beitrag zur Kenntnis des Paratyphus. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. XLIV, 1903, S. 243.

14. Vourloud, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé. Zentralbl. f. Bakter. I. Abt. Orig. Bd. 45, Heft 2 u. 3.

15. Segin, Über die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. XXXIV, S. 202.

16. Mac Conkey, Journal of Hygiene 1905, Bd. 5, S. 337.

17. Zeller, Untersuchungen über 40 aus kranken Kälbern gezüchtete Stämme der Paratyphusgruppe. Inaug. Dissert. 1908.

18. R. Trommsdorff, Über Mäusetyphus und ihre Verwandten. Archiv f. Hygiene. Bd. LV.

19. Kolle und Hetsch, Handbuch der Bakteriologie.

20. Löffler, Biologie und Differentialdiagnose der zur Typhusgruppe gehörigen Bazillen. Bericht über den XIV. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie. Bd. II, 69.

21. Kutscher und Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. LII, 1906, S. 301.

22. Conradi, Drigalski-Jürgens, Über eine unter dem Bilde des Typhus verlaufende, durch einen besonderen Erreger bedingte Epidemie. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. XLII, 1903.

23. Twort, Die Vergärung von Glykosiden durch Bakterien aus der Typhus-Coligruppe und der Erwerb neuer Vergärungsfähigkeiten seitens des Bac. dysenteriae und anderer Mikroorganismen. Zentralbl. f. Bakteriologie. Referate. Bd. XL, S. 508.

24. Klotz, Journal of Infectious Diseases. 1906, Nr. 2.

Über das Verhalten von Antikörpern bei der Filtration durch Kieselgur.

Von

Dr. Paul Andrejew,

Magister der Veterinärmedizin (Rußland), früherem freiwilligen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

In einer vorhergehenden Arbeit[1]) ist über das Verhalten der Agglutinine bei der Adsorption durch verschiedene Kolloidstoffe bezw. Suspensionen und bei der Filtration durch Kieselgur berichtet und insbesondere untersucht worden, ob sich dabei regelmäßige Unterschiede zwischen Normal- und Immunagglutinen ergaben.

Im Anschluß hieran wurde das Verhalten anderer Serumstoffe unter ähnlichen Bedingungen geprüft. Auch in dieser Hinsicht liegt bereits eine ganze Anzahl von Beobachtungen vor. Am meisten untersucht ist das Verhalten der Antitoxine bei der Filtration; da von manchen Stellen Diphtheriesera ausgegeben werden, die durch Filtration keimfrei gemacht sind, so besteht ein großes praktisches Interesse zu wissen, ob sich der Antitoxingehalt des Serums beim Filtrieren ändert. Aus den zunächst etwas widersprechenden Ergebnissen (De Martini[2]), Dziergowski[3]), Cobbet[4]), Madsen[5]) geht hervor, daß je nach den Bedingungen der Filtration der Antitoxinverlust außerordentlich schwankt, daß bei geeigneter Filtration größerer Serummengen (bis 1—2 Liter) durch Chamberlandkerzen jedoch keine erheblicheren Verluste als 5 bis höchstens 10% des Antitoxingehaltes eintreten (vergl. die zusammenfassende Darstellung von Madsen[5])).

Daß sich gelegentlich zwei verschiedene Serumstoffe durch Filtration voneinander trennen lassen, haben schon Ehrlich und Morgenroth gefunden (Trennung von zwei verschiedenen Komplementen bei Filtration durch Pukallfilter).

Bekanntlich tritt nun bei der Filtration neben der eigentlichen Filterwirkung die Adsorption durch das Filtermaterial je nach den Versuchsbedingungen mehr oder weniger stark hervor. Das Verhalten der Immunstoffe zu den verschiedenen Adsorbentien hat aber dadurch weiteres Interesse gewonnen, daß man auf die vielfachen Analogien aufmerksam wurde, welche zwischen den Immunreaktionen und den Adsorptions- und Fällungserscheinungen der Kolloide bestehen, und es kann wohl kein Zweifel sein, daß das Studium dieser Analogien (durch Biltz, Landsteiner, Neisser und Friede-

---

[1]) Andrejew, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 33, S. 84.

[2]) Zentralbl. f. Bakteriol. I. Abt. Bd. 20, S. 796.

[3]) Ebenda Bd. 21, S. 333.

[4]) Ebenda Bd. 24, S. 386.

[5]) Madsen, Kraus-Levaditis Handbuch II, S. 110.

mann, Zangger, Pauli, L. Michaelis u. a.) manche Immunitätsreaktionen unserem Verständnis näher gebracht hat. Als solche Analogien nennt Landsteiner neben dem schon von Ehrlich und von Bordet herangezogenen Vergleich der immunchemischen Reaktionen mit dem Färbungsprozeß insbesondere die von Eisenberg und Volk zuerst studierten quantitativen Verhältnisse der Absorption von Agglutinin durch die zugehörigen Bakterien, das Danyszsche Phänomen, das Fällungsoptimum bei spezifischer Präzipitation und Kolloidfällungen, die Bedeutung der Elektrolyte für die Ausflockung und Agglutination, die Komplementbindung durch spezifische und nicht spezifische Niederschläge.

Eine der ersten Arbeiten, die sich mit der Adsorption von Serumantikörpern (Antitoxin, Agglutinin, Bakterizidin) sowie von Toxinen durch Kolloide beschäftigte, war die aus dem v. Behringschen Institut hervorgegangene von Biltz, Much und Siebert[1]; in dieser Arbeit wurde bereits nachgewiesen, daß die adsorbierende Wirkung der Kolloide auf diese Stoffe vielfach ausgesprochen elektiv ist und daß zwischen der Wirkung elektropositiver und negativer Kolloide oft ein Gegensatz besteht. Daß die Adsorption der Eiweißstoffe des Serums mit der Adsorption der Antikörper nicht parallel geht, ist ebenfalls schon von den genannten Autoren, sowie von Landsteiner und Stankovic beschrieben worden.

Was die Deutung dieser Adsorptionserscheinungen betrifft, so hat Landsteiner mehrfach mit Nachdruck die Ansicht vertreten, daß die in Rede stehenden Reaktionen nicht physikalischer, sondern elektrochemischer Natur sind und daß dabei die Eiweißstoffe mit sauren und basischen adsorbierenden Stoffen salzartige Verbindungen eingehen können. Ähnlich hat L. Michaelis das Überwiegen elektrochemischer Kräfte bei den meisten der hier in Frage kommenden Adsorptionsvorgänge hervorgehoben und diese, von Potentialdifferenzen abhängigen Wirkungen von der rein physikalischen, auf der Oberflächenspannung beruhenden Adsorption unterschieden. Bezüglich dieser Fragen sei auf den zusammenfassenden Artikel Landsteiners[2], sowie auf die Monographie von L. Michaelis[3]) verwiesen. Daß auch unter den physikalischen Chemikern über das Wesen der Adsorptionserscheinungen noch recht verschiedene Auffassungen vertreten werden, geht aus den neueren Arbeiten von Robertson, Freundlich, Bayliss (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide, Bd. III) hervor, auf die zur Orientierung hingewiesen sei.

Bei unseren Untersuchungen ist fast ausschließlich die Filtration durch verschieden starke Schichten von Kieselgur benutzt worden, da dieses Verfahren bei unseren früheren Versuchen über die Adsorption der Agglutinine sich als besonders einfach erwiesen und gleichmäßige Ergebnisse erzielt hatte.

Wie in der erwähnten Arbeit gingen wir so vor, daß wir abgemessene Mengen einer 5%igen Aufschwemmung ausgeglühter Kieselgur in steriler 0,85% Kochsalzlösung auf den, mit einer einfachen Lage von Filterpapier (Schleicher & Schüll, Nr. 575) belegten Trichter des Büchnerschen Filters gossen; die Filterschicht wurde durch Ansaugen mit der Wasserstrahlluftpumpe leicht getrocknet und dann zunächst etwas Kochsalzlösung hindurchfiltriert. Für jede

---

[1]) Behrings Beiträge z. exp. Therapie. Heft 10. 1905.

[2]) Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide III, S. 221.

[3]) Physikalische Chemie u. Medizin. Handbuch von Korányi u. Richter, Bd. II.

Filtration wurde ein neues Filter hergestellt. Diese Filter, in denen natürlich nicht durch unzweckmäßiges Trocknen Spalten entstehen dürfen, scheinen gleichmäßige Resultate zu geben; nur muß man stets mit derselben Probe Kieselgur arbeiten. Wenn es darauf ankommt, nachzuweisen, ob die verschiedenen Serumstoffe in ungleichem Grade zurückgehalten werden, so ist es am zweckmäßigsten, wie wir das vielfach getan haben, ein Serum zu nehmen, das die betreffenden Stoffe (Ambozeptoren, Agglutinin, Komplement) gleichzeitig enthält.

Wir haben, da es uns auf die Adsorption durch das Filtermaterial, nicht auf eigentliche Filterwirkung der Poren ankam, stets kleine Mengen, in der Regel 5 ccm filtriert und zwar mit Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 : 10 bis 1 : 50 verdünntes Serum. Unter diesen Bedingungen findet, trotzdem die Filtration der genannten kleinen Mengen bei Benutzung der Wasserstrahlluftpumpe in weniger als $^1/_2$ Minute vollendet zu sein pflegt, offenbar eine ausgiebige Adsorption statt.

In einem Versuch (mit Agglutinin) haben wir 5 ccm $^1/_{25}$ verdünntes Serum mit 5 ccm 10%iger Kieselguraufschwemmung geschüttelt und 1 Stunde bei 37° stehen lassen, anderseits dieselbe Menge des verdünnten Serums durch die gleiche Menge Kieselgur auf den Büchnerschen Trichter filtriert; dabei war der Verlust an Agglutinin im letzteren Falle etwas stärker als im ersteren.

Ein sehr wichtiger Punkt ist die Verdünnung der zu filtrierenden Sera; wie bereits für die Agglutinine berichtet wurde, fanden wir auch für die übrigen Antikörper bei Filtration von unverdünntem Serum nur sehr geringen Verlust, dagegen bei zunehmender Verdünnung starkes Ansteigen der relativen Menge des adsorbierten Stoffes. Nun ist es ein für alle Adsorptionen gültiges Gesetz, daß die Adsorption aus verdünnten Lösungen relativ stärker ist; diese Regel haben Biltz, Much und Siebert[1]) für die Bindung von Tetanustoxin an kolloidales Eisenhydroxyd und Landsteiner und Uhlicz[2]) für die Adsorption von Euglobulin durch Kaolin bestätigt gefunden.

Bei unsern Versuchen ergab sich jedoch ein deutlicher Gegensatz in dieser Hinsicht zwischen dem Verhalten der Serumantikörper und des Serumkomplements einerseits und dem durch die Kochprobe mit Salpetersäure festgestellten Eiweißgehalt anderseits. Die Antistoffe wurden aus dem unverdünnten Serum so wenig adsorbiert, daß bei der gewöhnlichen Prüfung (mit größeren Zwischenstufen zwischen den einzelnen Verdünnungen) oft gar kein Verlust bemerkbar war, während bei 1 : 10 und darüber verdünnten Sera in der Regel über 50% der Antikörper zurückgehalten wurden. Dagegen war der Eiweißverlust, sowie der Verlust an Antigen (präzipitabler Substanz) weit weniger von der Verdünnung des Serums abhängig.

Das folgende Protokoll zeigt das Verhalten des hämolytischen Komplementes bei der Filtration durch eine mittelstarke Schicht von Kieselgur.

Versuch 1.

Frisches Meerschweinchenserum (Komplement).

Unverdünntes und $^1/_{10}$ verdünntes Serum durch 10 ccm[3]) Kieselgur filtriert und mit 1 ccm einer 5%igen Aufschwemmung von sensibilisiertem Hammelblut versetzt.

---

[1]) A. a. O.

[2]) Zentralbl. für Bakteriol. I. Abt. Bd. 40, 265.

[3]) D. h. es wurden 10 ccm der 5%igen Aufschwemmung von Kieselgur in Kochsalzlösung auf den Büchnerschen Trichter gegeben. Auch in den folgenden Tabellen ist die Stärke der Filterschicht in derselben Weise angegeben.

Ergebnis der Hämolyse
nach 1 h bei 37°.

Menge des Komplements	Meerschweinchenserum (Komplement)		
	durch 10 ccm Kieselgur filtriert		unfiltriert (Kontrolle)
	unverdünnt filtriert	$^1/_{10}$ verdünnt filtriert	
0,3	Kompl. Lösung	0	Kompl. Lösung
0,1	mäßig	0	„ „
0,03	Spur	0	fast kompl. Lösung
0,01	0	0	Spur
0,003	0	0	—

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist das hämolytische Komplement bei Filtration des unverdünnten Serums auf etwa $^1/_3$ des Wertes gesunken, während in dem $^1/_{10}$ verdünnten Serum nach der Filtration überhaupt kein Komplement mehr nachweisbar war.

Auch in weiteren Versuchen bestätigte sich, daß das Komplement weit stärker als Präzipitine, Agglutinine, Ambozeptoren und Tropine adsorbiert wurde. Man kann daher durch geeignete Filtrationsbedingungen aus einem frischen Serum das Komplement annähernd vollständig entfernen, während die genannten Antikörper fast völlig erhalten bleiben. Ein gleiches Verhalten haben bereits Muir und Browning[1]) bei der Filtration durch Berkefeldkerzen gefunden.

Der folgende Versuch zeigt die Adsorption des hämolytischen Komplements durch Knochenkohle, deren starkes Bindungsvermögen für Agglutinin wir bereits früher festgestellt hatten. Aus dem Protokoll geht hervor, daß die Kohle das Komplement sehr stark an sich reißt; ferner ist wiederum ersichtlich, wie stark die Adsorption mit zunehmender Verdünnung des Serums wächst.

Versuch 2.
Meerschweinchenserum (Komplement).

Serum auf $^1/_2$ und $^1/_{10}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung mit 0,5 bezw. 0,05 g Knochenkohle versetzt und 1 h bei 37° gehalten, dann zentrifugiert und filtriert; darauf Zusatz von 1 ccm 5 %igem sensibilisiertem Hammelblut.

Resultat der Hämolyse
nach 1 h bei 37° und 18 h bei 10°.

Menge des Serums	Meerschweinserum			
	Kontrolle	5 ccm $^1/_2$ verdünnt	5 ccm $^1/_{10}$	
		absorbiert mit Knochenkohle		
		0,5 g	0,5 g	0,05 g
0,1	stark	Stark	0	stark
0,05	„	schwach	0	mäßig
0,03	„	kleine Spur	0	schwach
0,01	„	„ „	0	kleine Spur
0,005	Spur	—	—	—

[1]) Journal of Pathologie and Bacteriologie. XIII, 233. 1909.

Die nun folgenden Versuche sind mit dem Serum eines Kaninchens angestellt, das sowohl mit Hammelblut als auch mit Cholerabazillen behandelt worden war.

Das Serum enthielt demnach gleichzeitig Hämolysin, Hämotropin, Hämagglutinin, Choleraagglutinin und Choleraambozeptoren. Die letzteren haben wir bei unsern Versuchen nicht berücksichtigt, dagegen wurden die übrigen genannten Antikörper in einer Probe des in der Verdünnung von 1 : 10 durch eine starke Kieselgurschicht filtrierten Serums quantitativ bestimmt und mit dem Gehalt des unfiltrierten Serums verglichen (Versuch 3a bis 3d).

Versuch 3a.

Hämolytisches (Anticholera-)Serum von Kaninchen.

Serum auf $^1/_{10}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 20 ccm Kieselgur filtriert, zu verschiedenen Serummengen wurden 0,1 Meerschweinchenserum (Komplement) und 1 ccm 5 % Hammelblutkörperchen zugesetzt.

Ergebnis der Hämolyse

nach 1 h bei 37 ° und 18 h im Eisschrank.

	Serummenge	Hämolytisches Kaninchenserum	
		unfiltriert	filtriert durch 20 ccm Kieselgur
1	0,03	Kompl. Lösung	Kompl. Lösung
2	0,01	„ „	„ „
3	0,003	„ „	fast kompl. Lösung
4	0,001	fast kompl. Lösung	Spur
5	0,0003	Spur	0
6	0,0001	0	0
7	0,00003	0	0
8	0,00001	0	0

Versuch 3b.

Dieselbe Serumprobe vor und nach der Filtration des auf $^1/_{10}$ verdünnten Serums (nach dem Verfahren von Neufeld und Bickel) auf Gehalt an Hämotropin untersucht.

Ergebnis der Phagozytose

nach $1^1/_2$ h bei 37 °.

	Serummenge	Hämolytisches Kaninchenserum	
		unfiltriert	filtriert durch 20 ccm Kieselgur
1	0,03	starke Phagozytose	starke Phagozytose
2	0,01	„ „	„ „
3	0,003	mäßige „	mäßige „
4	0,001	schwache „	schwache „
5	0,0003	ganz schwache „	0
6	0,0001	0	0

Versuch 3c.

Dieselbe Serumprobe auf den Gehalt an Hämagglutinin untersucht; zu je 1 ccm der Serumverdünnung wird je 1 ccm $2\frac{1}{2}$%iger Hammelblutaufschwemmung zugesetzt.

Ergebnis der Hämoagglutination
nach $^{3}/_{4}$ h bei 37° und 18 h im Eisschrank.

	Serummenge	Hämolytisches Kaninchenserum	
		unfiltriert	filtriert durch 20 ccm Kieselgur
1	1 ccm 1:40	+ + +	+ +
2	1 „ 1:100	+ +	+
3	1 „ 1:200	+ +	—
4	1 „ 1:300	+	—
5	1 „ 1:400	+	—
6	1 „ 1:600	—	—
7			

Versuch 3d.

Dieselbe Serumprobe auf den Gehalt an Choleraagglutinin untersucht.

Ergebnis der Agglutination mit Vibr. Cholerae
$^{1}/_{2}$ h Stunde bei 37°.

	Serummenge	Hämolytisches Kaninchenserum	
		unfiltriert	filtriert durch 20 ccm Kieselgur
1	1:100	+	+
2	1:300	+	±
3	1:500	+	—
4	1:1000	+	—
5	1:3000	—	—
6	1:10000	—	—

Aus den Versuchen geht hervor, daß die in dem Serum enthaltenen Ambozeptoren, Tropine und Agglutinine wenigstens keine erheblichen Unterschiede in ihrer Adsorbierbarkeit zeigen; der Gehalt des Serums an den genannten Antikörpern ist nach der Filtration auf etwa $^{1}/_{3}$ des ursprünglichen gesunken, nur der Verlust an Hämotropin schien etwas geringer zu sein.

Die Filtration spezifisch **präzipitierender** Sera hatte folgendes Ergebnis.

Versuch 4.

Antipferdeserum (präzipitierendes) von Kaninchen.

Serum auf $^{1}/_{10}$ verdünnt; 5 ccm der Serumverdünnung durch 10 und 20 ccm **Kieselgur filtriert** und dann 1 ccm des Filtrats mit verschiedenen Verdünnungen von Pferdeserum präzipitiert.

Ergebnis der Präzipitation
nach 5—10′ und 20—30′ bei 22° C.

Pferdeserum	Anti-Pferdeserum, je 1,0 $^{1}/_{10}$ Serum					
	Unfiltriertes		filtriert durch Kieselgur			
			10 ccm		20 ccm	
	nach 5—10′	nach 20—30′	nach 5—10′	nach 20—30′	nach 5—10′	nach 20—30′
1,0 $^{1}/_{10}$ verdünnt	±	+	±	+	—	—
1,0 $^{1}/_{100}$ „	+ + +	+ + + +	+ +	+ +	—	±
1,0 $^{1}/_{1000}$ „	+ +	+ +	+	+ +	±	+
1,0 $^{1}/_{10000}$ „	—	±	—	±	—	±

Auch die Präzipitine erleiden bei der Filtration einen Verlust. Wenn man jedoch nur den Endtiter des Serums in der Weise feststellen würde, daß die unterste Verdünnung des Antigens (Pferdeserums) angegeben würde, in welcher noch eine sichtbare Präzipitation auftritt, so würde das unfiltrierte Serum denselben Titer ergeben, wie das durch 10 bezw. 20 ccm Kieselguraufschwemmung filtrierte, nämlich 1 : 1000 nach 5—10′ und 1 : 10000 nach 20—30′ abgelesen; es würde also nach der Ausdrucksweise von Schur die „Empfindlichkeit" annähernd die gleiche sein. Dagegen ergibt sich ein großer Unterschied, wenn man statt dessen die Menge des entstandenen Präzipitates als Maßstab für den Wert des Serums nimmt, manche Autoren sehen ja diese von Nutall ausgebildete Art der Wertbemessung überhaupt als die theoretisch richtige für Bestimmung der Stärke präzipitierender Sera an (vergl. Schur in Kolle-Wassermanns Handbuch, Bd. 4, S. 630). Während beim unfiltrierten Serum der Niederschlag alsbald massig zu Boden sinkt, ergibt das durch die dünnere Filterschicht gegangene Antiserum einen viel schwächeren Niederschlag, das durch die dickere Schicht filtrierte zunächst nur eine ganz feine Trübung.

Ebenso auffallend ist die gleichzeitige Verschiebung des Optimums der Präzipitatbildung. Bekanntlich gibt ein präzipitierendes Serum den stärksten Niederschlag erst bei einer bestimmten Verdünnung des Antigens, die in unserem Fall etwa bei $^1/_{10}$ liegt. Bei dem durch die ca. 10 ccm-Kieselgurschicht filtrierten Serum ist die Stärke des Präzipitates in den Antigenverdünnungen von $^1/_{10}$ und $^1/_{100}$ schon annähernd gleich, und bei der durch die 20 ccm-Filterschicht gegangenen Probe liegt das Optimum ganz zweifellos bei etwa 1 : 1000, in den darüber und darunter liegenden Antigenverdünnungen bleibt die Präzipitation zunächst völlig aus und tritt erst spät und unvollständig auf.

Ein analoges Ergebnis hatte ein zweiter Versuch.

Versuch 5.

Präzipitierendes Antipferdeserum von Kaninchen.

Serum 30′ bei 60° inaktiviert, auf $^1/_{10}$ verdünnt und 5 ccm der Serumverdünnung durch 20 ccm Kieselgur filtriert. Je 1 ccm des auf $^1/_{10}$ verdünnten (filtrierten und unfiltrierten) Serums zu 1 ccm des verschieden verdünnten Normalserums zugesetzt.

Ergebnis der Präzipitation
nach $^1/_4$ h bei 22° und nach 1 h bei 37°.

Inaktives normales Pferdeserum	Inaktiv. Anti-Pferdeserum von Kaninchen (1 ccm $^1/_{10}$ verd.)			
	unfiltriertes		filtriert durch 20 ccm Kieselgur	
	nach $^1/_4$ h bei 22°	nach 1 h bei 37°	nach $^1/_4$ h bei 22°	nach 1 h bei 37°
1 ccm $^1/_{10}$ verdünnt	Spur	Spur	—	—
1 „ $^1/_{100}$ „	+ +	+ + + [1]	+	+
1 „ $^1/_{1000}$ „	+ +	+ + + [1]	+ +	+ + [1]
1 „ $^1/_{10000}$ „	+	+	—	+

Auf diese Hemmungserscheinungen sowie auf einige andere Punkte, in denen die Präzipitine bei der Filtration sich anders, wie die anderen Antikörper zu verhalten

[1]) Der Niederschlag hat sich zu Boden gesenkt.

scheinen, möchten wir hier nicht näher eingehen; diese Verhältnisse verdienen wohl eine eingehendere Untersuchung. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die Verringerung der Niederschlagsmenge und Verschiebung des Optimums auch bei einfacher Verdünnung des präzipitierenden Antiserums auftritt.

Bei Filtration eines unverdünnten Präzipitins durch eine 10 ccm-Kieselgurschicht sahen wir keinen, bei doppelter Schicht sehr starken Verlust.

In einem Falle haben wir das filtrierte Antipferdeserum auch auf seinen Gehalt an Bordetschen Antikörpern untersucht. Dabei zeigte sich das auffallende Ergebnis, daß in dieser Hinsicht ein merklicher Verlust bei der Filtration des auf $^1/_{10}$ verdünnten Serums auf eine starke Kieselgurschicht (entsprechend 20 ccm 5 % Kieselguraufschwemmung) nicht eingetreten war.

Versuch 6.

Präzipitierendes Antipferdeserum von Kaninchen.

Serum inaktiviert (30′ bei 60° C) und auf $^1/_{10}$ verdünnt; 8 ccm der Serumverdünnung durch 20 ccm Kieselgur filtriert und auf Bordetsche Antikörper untersucht.

Antigen = inaktiviertes Normal-Pferdeserum.

Komplement = 0,1 ccm Meerschweinchenserum.

Hämolytisches System = 1 ccm 5 %iges sensibilisiertes Hammelblut.

Serum, Antiserum und Komplement $^3/_4$—1 Stunde bei 37° gehalten, dann Zusatz des sensibilisierten Blutes; die Hämolyse wird nach 2 Std. abgelesen.

Ergebnis des Komplement-Ablenkungsversuches.

Inaktiviertes Normal-Pferdeserum	Inaktiviertes Antiserum (1 ccm $^1/_{10}$ verdünnt)	
	unfiltriertes	filtriert durch 20 ccm Kieselgur
1 ccm $^1/_{10}$ verdünnt	Fast komplette Lösung	Fast komplette Lösung
1 „ $^1/_{100}$ „	0	0
1 „ $^1/_{1000}$ „	0	0
1 „ $^1/_{10000}$ „	0	0
1 „ $^1/_{100000}$ „	komplette Lösung	komplette Lösung
1 „ $^1/_{1000000}$ „	„ „	„ „

Kontrollversuch zu Versuch 6.

	Inaktiviertes Normal-Pferdeserum ($^1/_{10}$ verdünnt)	Inaktiviertes unfiltriertes $^1/_{10}$ verdünntes Anti-Pferdeserum	Komplement	Hämolyt. System	Resultat nach 1 h bei 37°
1	—	—	0,1	1 ccm	Komplette Lösung
2	—	—	0,05	„	„ „
3	—	—	0,03	„	fast komplette Lösung
4	—	—	0,01	„	Spur
5	—	—	0,005	„	0
6	1 ccm	—	0,1	„	komplette Lösung
7	—	1 ccm	0,1	„	„ „
8	—	—	—	„	0

Der folgende Versuch zeigt, daß sich das Antigen, d. h. der präzipitable Stoff des Pferdeserums beim Filtrieren anders verhält, wie das Präzipitin.

Versuch 7. Normal-Pferdeserum.

5 ccm Normal-Pferdeserum (unverdünnt und auf $^1/_{10}$ verdünnt) durch 20 ccm Kieselgur filtriert und dann zu verschiedenen Serumverdünnungen je 0,1 ccm Antiserum zugesetzt.

Ergebnis der Präzipitation
sofort, nach 10′, 1 h und nach 24 h bei Zimmertemperatur.

Serumverdünnung	Normal-Pferdeserum: Kontrolle (unfiltriert)			Normal-Pferdeserum: unverdünnt, filtriert durch 20 ccm Kieselgur			Normal-Pferdeserum: $^1/_{10}$ verdünnt, filtriert durch 20 ccm Kieselgur		
	sofort	nach 10′	nach 1 h	sofort	nach 10′	nach 1 h	sofort	nach 10′	nach 1 h
1 1 ccm 1 : 10	++	++	Bodensatz	++	++	Bodensatz	++	++	Bodensatz
2 1 „ 1 : 30	++	++	„	++	++	„	++	++	„
3 1 „ 1 : 100	++	++	„	+	+	„	+	+	kl. Bod.
4 1 „ 1 : 300	+	+	++	+	+	++	+	+	++
5 1 „ 1 : 1000	+	+	++	+	+	++	+	+	++
6 1 „ 1 : 3000	±	+	+	—	±	±	—	±	±
7 1 „ 1 : 10 000	—	Spur	±	—	—	kl. Spur	—	—	kl. Spur

Nach 24 Stunden zeigten die Kontrollröhrchen 1—6 einen starken, 7 einen schwachen Niederschlag am Boden. Bei den beiden filtrierten Proben zeigten die Röhrchen 1—5 einen starken, 6 einen schwachen, 7 keinen deutlichen Bodensatz.

Im vorstehenden Versuche trat bei der Filtration von je 5 ccm des unverdünnten und 1 : 10 verdünnten Antigens nur ein ganz geringer Verlust ein, der präzipitable Stoff wird also im Vergleich mit dem Präzipitin nur in sehr geringem Maße vom Filtermaterial zurückgehalten. Ferner fällt auf, daß es dabei kaum einen Unterschied ausmacht, ob das Serum verdünnt oder unverdünnt filtriert wurde; auch trat keine Verschiebung des Optimums ein. In derselben Weise filtriertes Pferdeserum wurde auf seine toxische Wirkung gegenüber anaphylaktischen Meerschweinchen (bei intrakardialer Injektion) untersucht. Die wirksame Substanz des Serums verhielt sich dabei ähnlich, wie das Antigen in dem vorhergehenden Versuche; d. h. es trat überhaupt keine erhebliche Abschwächung ein und zwischen der in konzentriertem Zustande und der in $^1/_{10}$ Verdünnung filtrierten Probe war kein deutlicher Unterschied vorhanden.

Schließlich haben wir noch untersucht, wie sich das Luetikerserum nach der Filtration durch Kieselgur in bezug auf die Wassermannsche Reaktion verhält.

Versuch 8. Serum eines syphilitischen Patienten.

$^1/_{10}$ verdünntes und unverdünntes Serum durch 5 ccm Kieselgur filtriert und auf Komplementablenkung mit Lues-Extrakt geprüft.

Unverdünnt filtriertes und dann $^1/_{10}$ verdünntes Lues-Serum	Lues-Extrakt	Komplement	Sensibilisiertes 5 %iges Hammelblut	Resultat nach 1 h bei 37 ° und 18 h bei 9 °
0,2	0,2	0,1	1,0	Keine Lösung
0,1	0,2	0,1	1,0	„ „
0,05	0,2	0,1	1,0	Spur
0,02	0,2	0,1	1,0	mäßige Lösung
0,01	0,2	0,1	1,0	„ „

$^1/_{10}$ verdünnt filtriertes Lues-Serum	Lues-Extrakt	Komplement	Sensibilisiertes 5 %iges Hammelblut	Resultat nach 1 h bei 37 ° und 18 h bei 9 °
0,2	0,2	0,1	1,0	Mäßige Lösung
0,1	0,2	0,1	1,0	„ „
0,05	0,2	0,1	1,0	„ „
0,02	0,2	0,1	1,0	fast kompl. Lösung
0,01	0,2	0,1	1,0	fast kompl. Lösung

Das unfiltrierte Serum gab mit dem Extrakt zusammen noch in der Dosis von 0,01 völlige Hemmung; Serum und Extrakt an sich hemmten nicht.

Die vorstehende Tabelle zeigt, daß der bei der Wassermannschen Reaktion beteiligte Serumstoff bei der Filtration ziemlich stark zurückgehalten wird und zwar hatte auch in diesem Falle das verdünnte Serum dabei einen stärkeren Verlust, als das unverdünnte.

Die vorstehenden Untersuchungen sind auf Anregung und unter Leitung von Herrn Regierungsrat Prof. Neufeld ausgeführt worden; von diesem wurden die hauptsächlichsten Ergebnisse dieser und der vorhergehenden Arbeit am 5. Juni 1909 in der Sitzung der „Freien Vereinigung für Mikrobiologie“ in Wien mitgeteilt.

Über das Verhalten verschiedener Stämme des Bacillus paratyphosus B und des Bacillus enteritidis Gärtner in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon.

Von

Dr. Kurt Schern,

approb. Tierarzt, wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Die Arbeiten von Uhlenhuth[1]) und seinen Mitarbeitern haben gezeigt, daß der Bacillus suipestifer im Darm gesunder Schweine und anderer Schlachttiere vorkommt. Diese Tatsache ist für die Epidemiologie von Paratyphus und Fleischvergiftungen von großer Bedeutung. „Ohne Kenntnis dieser Tatsache", so sagen Uhlenhuth und seine Mitarbeiter (a. a. O.), „würden aus dem Nachweis eines dem Bacillus suipestifer oder Paratyphus B gleichenden Bakteriums in einem verdächtigen, angeschuldigten Nahrungsmittel, besonders einer Fleisch- oder Wurstware leicht Fehlschlüsse gezogen werden können." Der Grund hierfür liegt darin, daß alle diese Bakterien nebst ihren nächsten Verwandten mit Hilfe der heutigen bakteriologischen Technik nicht von einander unterschieden werden können. Da die Befunde der erwähnten Autoren durch Grabert[2]) u. a. bestätigt worden sind und da auch in der Wurst (Uhlenhuth, Hübener u. Rimpau) und anderen Nahrungsmitteln, die nach dem Genuß bei Menschen eine Erkrankung nicht veranlaßt haben, die Bakterien der Paratyphusgruppe nachgewiesen werden konnten, so fordert die Kenntnis dieser Tatsachen noch mehr als früher dazu auf, eine Differenzierung der genannten Bakterienarten zu versuchen.

Zur Differenzierung der Fleischvergifter- oder im weiteren Sinne diesen nahestehenden Bakterien sind vielfach Zuckerarten, Säuren, Alkohole usw. herangezogen worden. Mitteilungen über die Ergebnisse solcher Versuche finden sich bei Conradi

---

[1]) Uhlenhuth, Hübener, Xylander und Bohtz: Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Band XXVII, Heft 3.

[2]) Grabert, Zeitschrift für Infektionskrankheiten der Haustiere, Band III, 1. u. 2. Heft

und v. Drigalski[1]), die das Verhalten von Bacillus typhi und Bacterium Coli gegenüber Traubenzucker, Fruktose, Galaktose, Mannit, Dulcit, Arabinose, Xylose, Rhamnose, Rohrzucker, Maltose, Milchzucker, Amylum, Inulin und Dextrin geprüft haben. Von diesen Stoffen wurde bei der Herstellung des Nährbodens je 1 Teil zu 100 Teilen sterilisiertem, mit Lackmustinktur versetztem Nährboden hinzugefügt und nur 5 bis 10 Minuten lang, zur Vermeidung von Zersetzungen und hydrolytischen Spaltungen, im strömenden Dampf sterilisiert. Der Nähragar war durch Zusatz von 15 % Lackmustinktur blau gefärbt. Dieser Lackmusagar wurde in Schalen zu Platten gegossen und mit Impfstrichen von Bacterium coli und typhi versehen. Während der Kolibazillus den Arabinose und Xylosenährboden rot färbte, wurde der Arabinoseagar vom Typhusbazillus gebläut, dagegen der Xylosenährboden gerötet. Diesen Tatsachen ist in der Folgezeit keine besondere Beachtung geschenkt worden, obwohl die beiden Autoren im Verein mit Jürgens[2]) nochmals über ähnliche Versuche berichtet haben.

Gelegentlich einer in Saarbrücken ausgebrochenen Epidemie haben Conradi, v. Drigalski und Jürgens das als Erreger der Krankheit ermittelte Bakterium neben dem Bacillus typhi, Bacillus Schottmüller und Bacterium coli commune in Rindfleischpeptonagar oder schwach alkalische Bouillon gebracht, welche in einer Menge von etwa 10 ccm in Reagenzgläser gefüllt, mit 10 % Lackmuslösung und 1 % eines Kohlehydrates, insbesondere Fruktose, Erythrit, Galaktose, Mannit, Dulcit, Maltose, Milchzucker, Raffinose oder Inulin versetzt war. Die nach 24 stündigem Bebrüten der Kulturen in den einzelnen Nährböden beobachteten Farbenveränderungen sowie die Gasbildung haben die Autoren in einer Tabelle verzeichnet. Diese gibt darüber Aufschluß, daß sich der als Ursache der Epidemie ermittelte Bacillus Saarbrücken genau so wie der Bacillus Schottmüller verhalten hat, wohingegen der Bacillus typhi und das Bacterium coli commune gegenüber den beiden zuerst genannten Mikroorganismen unterschiedlich gekennzeichnet waren. Vorsichtiger Weise haben die Autoren weitgehende Schlüsse aus diesen Tatsachen nicht gezogen. Bezüglich der verwendeten Nährböden sei noch erwähnt, daß die Farbenunterschiede, sowie die Gasbildung in Agar weit bequemer zu beobachten war, als in Bouillon und daß deshalb nach Ansicht der Autoren der Stichkultur in Agar der Vorzug zu geben ist.

Es findet sich noch eine Angabe von von Drigalski[3]) in der Literatur vor, wonach dieser Autor zur Prüfung ihres biologischen Verhaltens 5 verschiedene Bakterien, nämlich das Bact. coli, den Bac. typhi, den Paratyphusbazillus, den Bac. dysenter. Stamm Döberitz, den Gärtnerbazillus und den Bac. Neunkirchen, in mit

---

[1]) von Drigalski und Conradi: Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Band 39, Seite 283, 1902.

[2]) Conradi, von Drigalski und Jürgens: Über eine unter dem Bilde des Typhus verlaufende, durch einen besonderen Erreger bedingte Epidemie. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 42. Band, Seite 141, Jahrg. 1903.

[3]) v. Drigalski: Über eine durch den Genuß von Pferdefleisch veranlaßte Massenvergiftung. Beitrag zur Ätiologie der Fleischvergiftungen. Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch, Seite 409. Verlag Gustav Fischer, Jena, 1903.

Dextrose, Fruktose, Invert, Mannit, Mannose, Dulcit, Arabinose, Maltose, Rhamnose, Milchzucker, Raffinose, Inulin oder Galaktose versetzte Lackmusnährböden brachte und nun hier die durch die Bakterien hervorgerufenen Veränderungen beobachtete. Er (a. a. O.) sagt am Schluß seiner Untersuchungen, daß eine weitgehende Ähnlichkeit und nur geringe, nicht entscheidend ins Gewicht fallende Unterschiede im kulturellen Verhalten der von ihm in den oben bezeichneten Nährböden geprüften B. enteritidis-Rassen beständen.

Wie aus der angeführten Literatur ersichtlich ist, sind Untersuchungen in größerem Umfange über das Verhalten der Paratyphus-B- und Gärtnerbakterien in Lackmusbouillon, der gewisse Kohlehydrate oder dergl. beigemischt waren, bisher nicht vorgenommen worden.

Für die folgenden Versuche sind Nährböden verwendet worden, welche aus der gewöhnlich in den Laboratorien gebrauchten Bouillon bestehen. Dieser Bouillon wurden 5 % Lackmustinktur und ½ % verschiedener Kohlehydrate, Säuren, Alkohole oder Eiweißkörper zugesetzt. Hervorgehoben sei, daß der Nährboden nach Zusatz der Lackmustinktur nicht zu lange sterilisiert werden darf, da sich mitunter Umsetzungen in ihm vollziehen können, die der ursprünglichen Farbe eine nicht erwünschte Abtönung verleihen. Am besten ist es, wenn die Nährböden nach Zusatz des Farbstoffes nur 30 Minuten lang in strömendem Dampf sterilisiert werden. Die Nährböden haben eine leicht bläulich-violette Farbe mit in engen Grenzen sich haltenden Abweichungen. Die Versuche, die mit den Paratyphusbakterien und deren Verwandten in den Nährböden vorgenommen wurden, sind stets aërob ausgeführt worden. Es sind stets Uhlenhuthsche Röhrchen, in denen sich ein kleines Gärungsröhrchen befindet und die ungefähr bis zu einem Drittel mit der betreffenden Lackmusbouillon gefüllt wurden, zu den Versuchen verwendet worden. In die Flüssigkeit eines jeden Röhrchens wurde 1 Öse der betreffenden Kultur, die innerhalb 24 Stunden auf Agar bei Bruttemperatur von 37° gewachsen war, verrieben.

Das Gärungsvermögen der Bakterien scheint, wie im Laufe dieser Untersuchungen beobachtet wurde, ein wechselndes zu sein. Da überdies die Feststellung der Menge der in den Gärröhrchen aufgefangenen Gase oft dem subjektiven Ermessen des jeweiligen Beobachters überlassen bleibt und demnach unsicher ist, kurzum bei diesem Verfahren eine Gleichmäßigkeit in der Beurteilung sich wohl nicht erreichen läßt, so sind die Befunde der Gärung nicht aufgezeichnet worden.

Durch die Tätigkeit der Bakterien in den Nährböden wird deren Farbe verändert. Die Kulturen wurden 24 Stunden bei 37° gehalten und hiernach wurde die Farbe des Nährbodens festgestellt. Nach 48 und nach 72 Stunden weiterer Bebrütung wurden die Kulturen nochmals besichtigt. Sodann wurden sie noch längere Zeit bei Zimmertemperatur beobachtet.

Erwähnt sei, daß in ähnlicher Weise Versuche mit Lackmusagar, der ebenfalls dieselben Kohlehydrate usw. enthält, angestellt worden sind. Es traten aber in diesen Nährböden die Farbenunterschiede nach dem Bebrüten nicht so deutlich auf, daher wurden diese Versuche nicht weiter fortgesetzt.

Der Lackmusbouillon wurde zuerst Mannit, Laktose, Galaktose, Glyzerin, Karbamid, Ammoniak, Asparagin oder Albumin zugesetzt, danach wurde sie mit Bakterien beschickt. In den einzelnen Kulturröhrchen ließen sich zwar nach 24stündigem Bebrüten Unterschiede erkennen, jedoch waren diese nicht gleichmäßig, und es sind bei Wiederholungen der Versuche keine einheitlichen Ergebnisse zu verzeichnen gewesen.

Später ist versucht worden, durch Zusatz gewisser Säuren zur Lackmusbouillon die alsdann in die Bouillon gebrachten Bakterien zu differenzieren. Zur Verwendung sind gelangt Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Apfelsäure, Weinsteinsäure und Oxalsäure. In diesen Nährböden hat sich eine Verschiedenheit in dem Wachstum der Bakterien nicht gezeigt.

Nach Feststellung dieser Tatsachen wurde Succinamid, Arabinose, Succinimid, Xylose, Raffinose, Mannose, Oxamid, Rhamnose, Lactamid, Saccharose und Fruktose der Lackmusbouillon hinzugesetzt und am 24. 11. 08 folgender Versuch angestellt.

Es wurde:

1. ein Bac. suipestifer, der aus einem gesunden Schwein gezüchtet ist (Pestifer 142),
2. ein Bac. suipestifer, der aus einem an der Pest gestorbenen Schwein stammt (Pestifer 65),
3. ein Bac. enteritidis Gärtner, der aus Schabefleisch gezüchtet ist,
4. Bac. enteritidis Gärtner (v. Ermengem)

in die erwähnten Nährböden verimpft, diese wurden bei 37° gehalten. Bei der Besichtigung der Kulturen am 25. 11. 08 wurden die aus der nachstehenden Tabelle ersichtlichen Ergebnisse festgestellt:

Bakterienart	Succinamid	Arabinose	Succinimid	Xylose	Raffinose	Mannose	Oxamid	Rhamnose	Laktamid	Saccharose	Fruktose
Bac. suipestifer 142	hell-violett	**rot**	violett	**sehr hell-violett**	hell-violett	rosa	violett	rot	violett-blau	violett-blau	rot
Bac. suipestifer 65	„	**violett**	„	**rot**	„	„	„	„	„	„	„
Bac. enteritidis Gärtner (Schabefleisch)	„	**rot**	„	**rot**	„	„	„	„	„	„	„
Bac. enteritidis Gärtner (v. Ermengem)	„	**rot**	„	**rot**	„	„	„	„	„	„	

Somit hat sich am ersten Tage nach dem Bebrüten ein Unterschied ergeben bei Arabinose und Xylose

1. zwischen dem Bac. suipestifer und dem Bac. enteritid. Gärtner,
2. zwischen den beiden Pestiferstämmen selbst.

Bei den anderen Nährböden haben sich Besonderheiten nicht feststellen lassen. Es sei sogleich bemerkt, daß diese auch in der Folgezeit unverändert geblieben sind.

Deshalb sollen sie nicht weiter erwähnt werden. Die Kulturen wurden sodann bis zum 26. 11. 08 bei 37° gehalten und hiernach der in der folgenden Tabelle eingezeichnete Befund erhoben.

Bakterienart	Arabinose	Xylose
Bac. suipestifer 142	rot	gelb (oben leicht violett)
Bac. suipestifer 65	gelb	rötlich-gelb
Bac. enteritid. Gärtner (Schabefleisch)	rot	rot
Bac. enteritid. Gärtner (v. Ermengem)	rot	rot

Die Kulturen wurden wiederum bis zum nächsten Tage bei 37° gehalten. An diesem, dem 27. 11. 08, waren sie noch unverändert, nur Bac. enteritid. Gärtner (v. Ermengem) hatte die Xylose leicht violett gefärbt, Vom 27. 11. 08 an wurden die Kulturen bei Zimmertemperatur aufbewahrt und bis zum 2. 12. 08 beobachtet. Die Kulturen blieben unverändert, nur Bac. enteritid. Gärtner (v. Ermengem) hat den Xylosenährboden inzwischen bläulich gefärbt. Der Versuch war damit abgeschlossen.

Die gefundenen Tatsachen wurden weiterhin nachgeprüft. Am 25. 11. 08 wurden verschiedene Bakterienstämme in Arabinose und Xyloselackmusbouillon gebracht; bei der Besichtigung am 26. 11. 08 nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° zeigte sich folgendes:

Bakterienart	Arabinose	Xylose
Bacillus suipestifer 65	violett	rötlich
„ „ 5	„	„
„ „ 202	rot	(fehlt, das Röhrchen ist entzwei)
„ „ 142	„	sehr hellviolett, fast gelb
Bac. enteritidis Gärtner (Schabefleisch	„	rot
„ „ „ (Moorseele)	„	„

Hiermit ist der Befund, der nach eintägiger Bebrütung beim ersten Versuche zu verzeichnen war, bestätigt.

Die Kulturen wurden weiter bei 37° gehalten; am 27. 11. 08 war ihr Aussehen gegen den Tag zuvor unverändert, insbesondere hat der aus den an der Pest verendeten Schweinen gezüchtete Bacillus suipestifer die Arabinose nicht weiter verändert.

Bei weiteren Versuchen trat regelmäßig die Veränderung des blauvioletten Farbentons in Rot wieder auf sowohl einmal bei dem aus gesunden Schweinen stammenden Bac. suipestifer in Arabinose, als auch bei dem aus pestkranken Schweinen gezüchteten Bac. suipestifer in Xylose, wogegen der Arabinosenährboden von dem aus pestkranken Tieren herrührenden Bac. suipestifer hellviolett bis gelb gefärbt wurde. Das Gleiche machte der aus gesunden Schweinen stammende Bac.

suipestifer mit Xyloselackmusbouillon; indes wurde bei ihm letztere manchmal auch hellgelbrötlich gefärbt. Bei der Kenntnis dieser Tatsache ist es leicht, den jeweilig untersuchten Bakterienstamm in die Gruppe, zu der er gehört, einzureihen.

Am 28. 11. 08 wurden die Kulturen, nachdem sie bis zu diesem Tage bei 37° gehalten worden sind, wiederum besichtigt; der Befund war derselbe wie am 27. 11. 08. Demnach hat im Gegensatz zu der beim ersten Versuche gemachten Beobachtung diesmal der von pestkranken Tieren herrührende Bac. suipestifer die Arabinoselackmusbouillon nicht entfärbt bezw. nicht gelb gefärbt. Die Entfärbung oder die Violettfärbung der Arabinoselackmusbouillon durch diese Art des Bac. suipestifer scheint somit nicht regelmäßig zu erfolgen, namentlich bei länger andauernder Bebrütung.

Die Kulturen wurden noch zwei weitere Tage bei Zimmertemperatur beobachtet, ohne daß etwas Besonderes an ihnen festgestellt werden konnte.

Es hat demnach dieser zweite Versuch die bei dem ersten gemachten Wahrnehmungen im allgemeinen bestätigt.

Am 27. 11. 08 wurden wiederum solche Versuche mit aus gesunden und aus pestkranken Schweinen stammenden Pestiferstämmen und mit Gärtnerstämmen angesetzt und die Kulturen bei 37° gehalten. Am 28. 11. 08 zeigten sich folgende Befunde:

Bakterienart	Arabinose	Xylose	Bakterienart	Arabinose	Xylose
Bacillus suipestifer 338 (aus gesundem Schwein)	rot	hellviolett fast gelb	Bacillus suipestifer 27.2. (aus pestkrankem Schwein)	violett	rötlich gelb
Bacillus suipestifer +	„	„	Bacillus suipestifer 231	„	„
„ „ 204	„	„	„ „ 27 +	„	„
„ „ F.	„	„	„ „ 273	„	„
„ „ 42	„	„	„ „ 27 a	„	„
„ „ 202	„	„	„ „ 274	„	„
„ „ 52	„	„	„ „ 5	„	„
„ „ 142	„	„	Bacillus enteritidis Gärtner (Rattenseuche Schern)	rot	rot
„ „ 152	„	„			
„ „ 65 (aus pestkrankem Schwein)	violett	rötlich gelb	Bacillus enteritidis Gärtner (v. Drigalski)	„	„
Bacillus suipestifer 27	„	„	Bacillus enteritidis Gärtner (G. A.)	„	„

Hierdurch ist das Ergebnis der ersten Versuche bestätigt. Die Kulturen wurden darauf bis zum 30. 11. 08 bei 37° gehalten. Sie bleiben fast unverändert, ebensowenig veränderten sie sich während der Folgezeit bei Zimmertemperatur; die Farbenunterschiede traten nur deutlicher hervor. Der Versuch war damit abgeschlossen.

Am 30. 11. 08 wurde ein ähnlicher Versuch angestellt; die Kulturen, die bei 37° gehalten wurden, zeigten am 1. 12. 08 folgenden Befund:

Bakterienart	Arabinose	Xylose	Bakterienart	Arabinose	Xylose
Bac. suipestifer 142 (aus ges. Schwein)	rot	violett (trüb)	Bac. paratyphosus B. Meerschwein Dieterlen	rot	gelb
Bac. suipestifer 202	„	„	Bac. paratyphosus B. Breslau	„	„
„ „ ges.	„	gelb	Bac. enteritidis Gärtn. v. Drigalski	„	rot
„ „ 338	„	violett	Bac. enteritidis Gärtn. Händel-Brühl	„	„
„ „ F. 29. 4.	„	„	Bac. enteritidis Gärtn. Rattenseuche Schern	„	„
„ „ 52	„	„	Bac. enteritidis Gärtn. G.-A.	„	„
„ „ 152	„	„	Bac. enteritidis Gärtn. Dunbar	„	„
„ „ ges. S.	„	gelb	Bac. enteritidis Gärtn. gesunde Ratte	„	„
„ „ g. S. 204	„	violett	Bac. enteritidis Gärtn. Gent	„	„
„ „ 227 (aus pestkrankem Schwein)	violett	rot	Bac. enteritidis Gärtn. Ratin Halle	„	„
Bac. suipestifer 226	„	„	Bac. enteritidis Gärtn. Schabefleisch	„	„
„ „ 233	„	„	Bac. enteritidis Gärtn. Händel	„	„
„ „ 230	„	„			
„ „ 245	„	„			
„ „ 225	„	„			
„ „ 244	„	„			
„ „ 229	„	„			
„ „ 0	„	„			
„ „ 224	„	„			

Die Kulturen wurden danach wieder bei 37° gehalten. Am 2. 12. 08 traten an ihnen die Farbenunterschiede noch deutlicher hervor. Der aus gesunden Schweinen stammende Bac. suipestifer hatte die Farbe des Xylosenährbodens insofern etwas geändert, als einzelne seiner Stämme das Nährsubstrat mit einem leicht rötlichen Farbenton versehen hatten. Im übrigen war etwas Besonderes nicht wahrzunehmen. Die Kulturen wurden alsdann wieder bei 37° gehalten. Am nächsten Tage, dem 3. 12. 08, war die dunkle Färbung der Arabinosekultur des aus pestkranken Schweinen stammenden Bac. suipestifer deutlicher hervorgetreten. Die Nährflüssigkeiten sahen trübe, bläulichviolett-schmutziggrau aus. Während der folgenden beiden Tage, an denen die Kulturen bei Zimmertemperatur gehalten wurden, wurde die Nachdunklung in der mit dieser Pestiferart beschickten Arabinoselackmusbouillon noch augenfälliger. Damit wurde der Versuch abgeschlossen.

Am 3. 12. 09 wurde ein Versuch angesetzt, bei dem nur menschenpathogene Bac. Paratyphus-B-Stämme zur Verwendung kamen. Nachdem die Kulturen bis zum 4. 12. 08 bei 37° gestanden hatten, zeigte sich an ihnen an diesem Tage nachtehender Befund (siehe Tabelle S. 394).

Die Kulturen wurden alsdann noch 2 Tage lang bei 37° gehalten. In der Xyloselackmusbouillon war der Farbenton derselbe geblieben, nur in zwei Röhrchen war er rötlich geworden.

Nach diesen Befunden erscheint es möglich, die untersuchten menschenpathogenen Paratyphusstämme entweder in die Pestifergruppe einzureihen, welche die Arabinoselackmusbouillon rot färbt und in der Xyloselackmusbouillon nicht gleichmäßige Farbenveränderungen hervorbringt, die zwischen gelb und violett liegen und mannigfachen

Bakterienart	Succin-amid	Arabi-nose	Succin-imid	Xy-lose	Raffi-nose	Man-nose	Ox amid	Rham-nose	Lakt-amid	Saccha-rose	Fruk-tose
B. paratyphosus Meirelbeck	hell-violett	rot	violett	gelb (ent-färbt)	hell-violett	rosa	violett	rot	violett	violett	rot
B. paratyphosus Düsseldorf	„	„	„	hellgelb rötlich, Stich ins Violette	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Wilh. Brück	„	„	„	hellgelb rötlich bis gelb	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Greifswald	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Breslau	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Neunkirchen	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Hübchen, Urin	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Barbier Brück, Stuhl	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Louise Nagel, Stuhl	„	„	„	gelb (ent-färbt)	„	„	„	„	„	„	„
B. paratyphosus Joh. Nagel, Urin	„	„	„	hellgelb rötlich bis gelb	„	„	„	„	„	„	„

Schwankungen unterworfen sind. Möglicherweise wird man auch versuchen können, die bei den früheren Experimenten verwendeten Pestiferstämme je nach ihrem Verhalten in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon an die menschenpathogenen Paratyphusbakterien anzureihen. Hierbei wird sich leicht feststellen lassen, daß viele Pestiferstämme außerhalb der Paratyphusbakteriengruppen des Menschen stehen und sich nicht dazu zählen lassen. Zu diesen Pestiferstämmen gehören die meisten der aus pestkranken Schweinen herrührenden.

Hiernach bestand zunächst die Aufgabe, an einer größeren Anzahl von Bakterienstämmen der Paratyphus- und der Gärtnergruppe das kulturelle Verhalten in Arabinose- und Lackmusbouillon zu prüfen.

Am 7. 12. 08 wurden folgende Kulturen in den Versuch genommen und an ihnen am 8. 12. 08 nach 24stündiger Bebrütung bei 37° und am 10. 12. 08 desgleichen nach 72stündiger Bebrütung, endlich nach siebentägigem Verweilen bei Zimmertemperatur am 17. 12. 08 die in der Tabelle (Seite 395 u. 396) eingezeichneten Befunde festgestellt.

Der Versuch wurde am 17. 12. 08 abgeschlossen.

Aus den in der Tabelle angeführten Ergebnissen folgt, daß im allgemeinen die Ergebnisse der ersten vorstehend geschilderten Versuche eine Bestätigung gefunden haben, obwohl auch einige Abweichungen zu verzeichnen waren. Wenn man indes aus den ersten Versuchen bezüglich der Differenzierung der untersuchten Bakterien

Nr.	Bakterienart	8. 12. 08		10. 12. 08		17. 12. 08	
		Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose
1	Bac. suipestifer Ferkel 8 (vom pestkranken Tier)	hellviolett	rot	wie am 8. 12. 08	wie am 8. 12. 08	bläulich, klar, gelber Bodensatz	wie am 8. 12. 08
2	Bac. suipestifer 211	violett	"	"	"	"	"
3	" 63	rot	rötlich-gelb	"	"	wie am 8. 12. 08	fehlt (entzwei)
4	" 271	hellviolett	rot	"	"	bläulich, klar, gelber Bodensatz	wie am 8. 12. 08
5	" 200	rot	gelb	"	leichter Stich ins Rötlich-gelbe	wie am 8. 12. 08	rötlich-gelb
6	" 202	hellviolett	rot	"	"	bläulich, klar, gelber Bodensatz	wie am 8. 12. 08
7	" 213	"	"	"	"	"	"
8	" F. 10	"	"	"	"	"	"
9	" 344	rot	gelb	"	"	wie am 8. 12. 08	"
10	" 270	hellviolett	rot	"	"	bläulich, klar, gelber Bodensatz	untere Hälfte gelb, obere violettblau
11	" 215	fast gelb (leicht hellviolett)	"	"	"	"	wie am 8. 12. 08
12	" 206	violett	rötl.-gelb	"	"	"	"
13	" F. 20	rot	gelb	"	"	wie am 8. 12. 08	violett
14	" F. Gans	violett	rot	"	"	bläulich, klar, gelber Bodensatz	wie am 8. 12. 08
15	" Kart. B.	"	"	"	"	"	"
16	" F. Schir.	"	rötlich	"	"	"	"
17	" Harnstoff I.	"	rot	"	"	"	"
18	" 204	hellviolett	"	"	"	"	"
19	" 64	rot	rot-violett	"	"	wie am 8. 12. 08	rot
20	" 205	hellviolett	rot	"	gelb	bläulich, klar, gelber Bodensatz	wie am 8. 12. 08
21	" F. +	violett	"	"	"	"	"
22	" 50	rot	gelb	"	wie am 8. 12. 08	wie am 8. 12. 08	untere Hälfte gelb, obere bläulich
	Bac. paratyphosus B. (vom Mensch)						
23	Bac. paratyphosus England	"	rötlich-gelb	"	gelb	"	gelb, trübe, oben blauer Rand
24	" Hellwig	"	gelb	"	wie am 8. 12. 08	"	rot
25	" Hübchen 8	"	"	"	"	"	trüb, gelb, oben blauer Rand
26	" Sticker 8	"	"	"	"	"	"
27	" Hebenthal 7	"	"	"	"	"	"
28	" Spaniol 9	"	"	"	"	"	"

Nr.	Bakterienart	8. 12. 08		10. 12. 08		17. 12. 08	
		Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose
	Bac. paratyphosus B. (vom Mensch)						
29	„ Stiebenthal 11	rot	gelb	wie am 8. 12. 08	wie am 8. 12. 08	wie am 8. 12. 08	trüb, gelb, oben blauer Rand
30	„ Japes	„	rötl.-gelb	„	„	„	rot (klar
31	„ Oilgaard	„	gelb	„	„	„	„
32	„ Diadonal	„	rötl.-gelb	„	gelb	„	trüb, gelb
33	„ Ebener	„	gelb	„	wie am 8. 12. 08	„	trüb, violettgelb
34	„ Maas	„	„	„	„	„	„
35	„ Wagner	„	rötl.-gelb	„	„	„	rot (klar
36	„ Scheibel	„	gelb	„	„	„	hellviolett gelb (trüb
37	„ Frau Nagel Stuhl	„	„	„	„	„	„
38	„ Heinr. „ „	„	rötl.-gelb	„	„	„	„
39	„ Febris gastrica	„	rot	„	„	„	wie am 8. 12. 08
	Bac. paratyphosus B. (vom Tier)						
40	„ G. 19	hellviolett	hellviolett	„	„	„	„
41	„ G. 15	„	rötl.-gelb	gelb	„	gelb, klar, Stich ins Violette	rotgelb
42	„ G. 18	„	„	„	„	hellviolett	rot
43	„ Kälberruhr 7	rot	gelb	„	„	rot	obere Hälfte violett, untere gelb
	Bac. paratyphosus B. (aus Wurst gezüchtet)						
44	„ Schl. B.	hellviolett	rötl.-gelb	wie am 8. 12. 08	„	bläulich, klar, gelber Bodensatz	rötlich-gelb
45	„ Sa. B.	rot	„	„	„	rot, klar, weißroter Bodensatz	bläulich-gelb
	Bac. enterit. Gärtner (vom Kalb)						
46	„ Paracoli J. 107	hellviolett	gelb-rötl.	gelb, klar	rötlich	blau, klar, weißroter Bodensatz	rot
47	„ 8	rot	fast gelb	wie am 8. 12. 08	wie am 8. 12. 08	rot, klar	hellblau, klar
48	„ 103	gelb	„	obere Hälfte bläulich, gelber Bodensatz	rötlich	blau, klar, gelber Bodensatz	rot
49	„ 126	hellviolett	gelb-rötl.	gelb, klar	wie am 8. 12. 04	„	„
50	„ 105	fast völlig entfärbt, gelb	gelb	obere Hälfte bläulich, gelber Bodensatz	gelb-rötlich	„	rötlich-violett
51	„ 145	gelb	gelb-rötl.	wie am 8. 12. 08	gelb, klar	„	hellblau, klar
52	„ 110	rot	gelb	„	wie am 8. 12. 08	rot, klar	rot

gewisse Schlüsse gezogen hätte, von denen andeutungsweise oben die Rede war, so hätte man diese jetzt auf Grund der an einem größeren Untersuchungsmaterial gewonnenen Erfahrungen umstoßen müssen.

Am 9. 12. 08 wurden nun folgende Kulturen in den Versuch genommen und an ihnen am 10. 12. 08 nach 24stündiger Bebrütung bei 37° und am 12. 12. 08 desgleichen nach 72stündiger Bebrütung, schließlich nach fünftägigem Verweilen bei Zimmertemperatur am 17. 12. 08 die in nachstehender Tabelle verzeichneten Befunde festgestellt:

Nr.	Bakterienart	10. 12. 08		12. 12. 08		17. 12. 08	
		Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose
	Bac. suipestifer (aus pestkrankem Schwein)						
1	246	hellviolett	hellviolett	wie am 10. 12. 08	wie am 10. 12. 08	bläulich-violett (klar), gelb. Bodensatz	bläulich-violett (klar), gelber Bodensatz
2	„ 214	„	rot	„	„	„	rot
3	„ 77	rot	rötlich-gelb	„	„	rot	„
4	„ 552	hellviolett	rot	gelb	„	wie Nr. 1	„
5	„ 62	rot	rötlich-gelb	wie am 10. 12. 08	gelb	rot	unten gelb, oben bläulich
6	„ Kontrolle 12	hellviolett	rot	„	wie am 10. 12. 08	wie Nr. 1	rot
7	„ 231	gelb (klar)	rötlich-gelb	„	„	„	gelb-bläulich (klar)
8	„ 248	hellviolett	rot	„	„	„	rot
9	„ Ferkel 4	„	„	„	„	„	„
10	„ 228	„	rötlich-gelb	„	„	„	„
11	„ 59	rot	leicht violett, fast gelb	„	„	rot	gelb-bläulich (klar)
12	„ K. Ferkel	hellviolett	rot	„	„	wie Nr. 1	rot
13	„ 48	rot	gelb	„	„	rot	gelb-bläulich (klar)
14	„ 49	„	leicht violett, fast gelb	„	gelb	„	rötlich-violett, gelber Bodensatz
15	„ 208	hellviolett	rot	„	wie am 10. 12. 08	wie Nr. 1	rot
16	„ 207	rot	rötlich-gelb	„	„	rot	„
17	„ 47	„	gelb	„	„	„	rötlich-violett, gelber Bodensatz
18	„ 271 +	hellviolett	rot	„	„	wie Nr. 1	rot
	Bac. paratyphosus B (aus krankem Mensch)						
1	Luise Nagel (Blut)	rot	rötlich-gelb	„	„	wie am 10. 12. 08	gelb
2	„ Joh. „ (Urin)	„	gelb (trübe)	„	„	„	„
3	„ „ „ (Stuhl)	„	rötlich-gelb	„	„	„	rötlich-gelb
4	„ Frau „ (Urin)	„	„	„	„	„	„
5	„ Heinr. „ (Urin)	„	„	„	„	„	gelb
	Bacillus enteritidis Gärtner (aus krankem Mensch)						
1	Limmerik	„	„	„	„	„	rötlich-gelb

Es soll im Anschluß hieran gleich der letzte Versuch mitgeteilt werden, der am 14. 12. 08 angesetzt wurde. Die Kulturen zeigten am 15. 12. 08 nach 24stündiger Bebrütung bei 37° und am 17. 12. 08 desgleichen nach 72stündiger Bebrütung den in nachstehender Tabelle verzeichneten Befund:

Nr.	Bakterienart	15. 12. 08		17. 12. 08	
		Arabinose	Xylose	Arabinose	Xylose
	Bacillus paratyphosus B				
1	„ Händel 27	rot	rötlich-gelb	wie am 15. 12. 08	wie am 15. 12. 08
2	„ Brand	„	hellviolett-gelblich	„	gelb
3	„ Psittacosis	„	„	„	„
4	„ Mäusetyphus I	„	„	„	„
5	„ G. vir. Schwein	hellviolett	rötlich-gelb	„	fast rot
6	„ Hellwig	rot	fast gelb	„	wie am 15. 12. 08
7	„ Schottmüller	„	„	„	fast rot
8	„ Mäusetyphus II	„	„	„	wie am 15. 12. 08
9	„ Händel	„	hellviolett	„	„

Bemerkt sei, daß von den in der Tabelle aufgeführten Stämmen nicht in allen Fällen bekannt war, ob sie von Menschen oder von Tieren herrührten.

Da nur während des 1. bis 3. Bebrütungstages nach Anlegung der Kulturen ziemlich gleichmäßige Ergebnisse zu erzielen waren, wie aus den früheren Versuchen ersichtlich ist, so ist bei diesem letzten Versuche eine mehrtägige Aufbewahrung und Beobachtung der Kulturen bei Zimmertemperatur unterlassen worden. Da überhaupt die nach dem ersten Bebrütungstage aufgetretenen Farbenveränderungen späterhin einem Wechsel unterworfen zu sein pflegen, so erschien es zweckmäßig, den Befund am ersten oder höchstens dritten Tage nach Beginn des Versuches entscheidend sein zu lassen.

Welche Schlüsse lassen sich aus den mitgeteilten Befunden ziehen? Zunächst weisen die Ergebnisse der Versuche darauf hin, welchen großen Irrtümern man ausgesetzt sein kann, wenn derartige Untersuchungen nur an wenigen Kulturstämmen, nicht aber an einem größeren Material ausgeführt werden. Nach den ersten der oben beschriebenen Versuche hat es nahe gelegen, gewisse Unterscheidungsmerkmale für die untersuchten Bakterien festzustellen. Nach dem Verlaufe der weiteren Untersuchungen unter Verwendung zahlreicher Bakterienstämme erscheint es indes nur noch angängig, bei den Bakterienstämmen auf Grund ihres kulturellen Verhaltens in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon einzelne Varietäten anzuerkennen. So lassen sich verschiedene Bakteriengruppen aufstellen. Die zu den vorstehenden Versuchen benutzten Paratyphus-B- und Gärtnerstämme lassen sich, wenn man die Befunde 24 Stunden nach dem Bebrüten bezüglich ihres Verhaltens in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon in Betracht zieht, folgendermaßen gruppieren:

Bacillus paratyphus B. Mensch	Arabinose	Xylose
Gruppe I	**rot**	**gelb**
„ II	„	**rötlich-gelb**
„ III	„	**rötlich-violett**
„ IV (Anm.: nur Febris gastrica)	„	**rot**
Bacillus enteritidis Gärtner Mensch		
Gruppe I	„	„
„ II	„	**rötlich-gelb**

In ähnlicher Weise kann man eine Gruppierung der bei Tieren vorkommenden Paratyphus-B- und Gärtnerbazillen vornehmen, welche zu den vorstehenden Versuchen benutzt worden sind. Bei einer derartigen Aufstellung zeigt sich, daß u. a. viele Stämme des aus kranken Schweinen stammenden Bacillus suipestifer die Arabinoselackmusbouillon hellviolett färben, während die Xyloselackmusbouillon von den gleichen Bakterien rot gefärbt wird. Es ergibt sich auch dabei, daß die rote Farbe, welche die Nährböden einmal angenommen haben, meist bleibend ist, während die hellviolette später oft nachdunkelt oder ins Gelbe umschlägt, wohingegen gelb mitunter in Violett übergeht u. a. m. Das Bemerkenswerte einer derartigen Aufstellung ist, daß es erstens tierische Paratyphus-B-Stämme gibt, die sich ebenso verhalten, wie vom Menschen herrührende, und daß sich zweitens tierische Paratyphus-B-Stämme vorfinden, die völlig andere Eigenschaften aufweisen, als die vom Menschen stammenden, ganz abgesehen davon, daß sie sich untereinander verschieden verhalten.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Bacillus enteritidis Gärtner. Hier ist besonders auffallend, daß die rattenpathogenen Gärtnerstämme, u. a. der Ratinbazillus, sich genau so verhalten, wie die vom Menschen herrührenden Gärtnerstämme.

Es erübrigt sich wohl, hier eine eingehende Gruppierung der untersuchten Bakterienstämme vorzunehmen, weil eine solche Zusammenstellung der von Tieren herrührenden Paratyphusbakterien zunächst keine Bedeutung hat, wenn auch an und für sich die gefundenen Tatsachen bedeutungsvoll sind.

Höchstwahrscheinlich lassen sich gleichfalls für manche Stämme von Typhusbakterien, schon wenn man sie in gewöhnliche Lackmusmolke bringt, Unterschiede feststellen, sofern man nur eine größere Anzahl solcher Stämme zur Untersuchung verfügbar hat. Je höher die chemische Konstitution der verwendeten Nährböden ist, um so mehr werden verschiedene Ergebnisse erzielt werden.

Es wird sich vielleicht empfehlen, bei Fleischvergiftungen und ähnlichen Erkrankungen die dabei als Ursache in Betracht kommenden und aus einem verdächtigen Nahrungsmittel gezüchteten Bakterien hinsichtlich ihres Verhaltens in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon behufs ihrer Gruppierung zu prüfen. Hierbei soll der Befund maßgebend sein, der am 1. oder vom 1. bis 3. Tage der Bebrütung bei täglicher Besichtigung der Kulturen erhoben wird. Natürlich ist bezüglich der Pathogenität eines Bakteriums auf Grund seiner kulturellen Eigenschaften ein Schluß nicht gestattet. Vor allen Dingen fordern die Ergebnisse der vorstehenden Versuche dazu auf, überall

die vorhandenen Menschen-Paratyphus-B-Stämme und die Menschen-Gärtnerstämme in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon kulturell zu untersuchen.

Faßt man die Hauptergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammen, so läßt sich sagen:

1. Es gelingt mit Hilfe von Arabinose- und Xyloselackmusbouillon, die in der vorstehenden Arbeit untersuchten Paratyphus-B-Bakterien und die Stämme des Bacillus enteritidis Gärtner in Gruppen einzuteilen.

2. Die untersuchten Paratyphus-B-Stämme, welche vom Menschen herrühren, lassen sich in 5 Gruppen einteilen, die untersuchten Stämme des Bacillus enteritidis Gärtner, welche vom Menschen herrühren, in 2 Gruppen.

3. Viele der vom Tier stammenden untersuchten Paratyphus-B- und Gärtnerstämme verhalten sich in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon nicht wie die aus dem Menschen gezüchteten und lassen sich nicht in die unter No. 2 erwähnten Gruppen einreihen.

4. Einzelne vom Tier stammende Paratyphus-B- und Gärtnerstämme verhalten sich in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon ebenso, wie die aus dem Menschen gezüchteten und lassen sich in die unter No. 2 erwähnten Gruppen einreihen.

5. Bei zukünftigen Funden von Paratyphus-B- und Gärtnerbakterien sowohl beim Menschen als auch beim Tier, in Nahrungsmitteln und überhaupt in der Außenwelt, empfiehlt es sich, die Bakterien hinsichtlich ihres Verhaltens in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon zu prüfen und sie gegebenenfalls in die vorhandenen Gruppen einzureihen oder neue Gruppen der vom Menschen herrührenden Bakterien dieser Art aufzustellen.

Nachtrag.

Von wie großer Bedeutung es ist, Untersuchungen, wie die in der vorstehenden Arbeit erwähnten, an einer großen Anzahl von Bakterienstämmen auszuführen, geht aus einer Arbeit von Bahr, Raebiger und Grosso hervor (Zeitschrift für Infektionskrankheiten der Haustiere, 5 Bd., Heft 3—4, Seite 295). Diese Autoren haben geglaubt, für den Ratinbazillus, den Bacillus enteritidis Gärtner und den Bacillus paratyphosus B neue Unterscheidungsmerkmale gefunden zu haben. Wahrscheinlich hatten Bahr und seine Mitarbeiter die Untersuchungen nur an einer geringen Anzahl von Bakterienstämmen jener Gruppen ausgeführt, denn schon im nächsten Heft derselben Zeitschrift haben sie die Angaben, die sie über das Wachstum der Bakterien in bernsteinsaurer Ammoniak-Cibils-Aschelösung und in Arabinosebouillon gemacht hatten, widerrufen. Da sie aber ihre Angaben über die Unterschiede jener Bakterien hinsichtlich des Verhaltens auf Koffeinagar und in Traubensäure bestehen lassen, so sind diese Angaben von mir an 4 verschiedenen Paratyphus-B-Stämmen, am Ratinbazillus und an 4 verschiedenen Gärtnerstämmen nachgeprüft wurden. In keinem Falle habe ich die Beobachtungen von Bahr, Raebiger und Grosso bestätigen können.

Über Microsporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne.

Von

Prof. **Dr. A. Schuberg,**

Regierungsrat im Kaiserl. Gesundheitsamte.

(Hierzu Tafel VI—IX.)

Bei der Präparation einer männlichen Barbe (Heidelberg, Ende Juli 1906) fiel mir auf, daß große Strecken der Hodenoberfläche hellere, weißliche Flecken besaßen; sie waren verschieden groß, im allgemeinen rundlich und sprangen zum Teil mit flacher Wölbung über die sonst glatte Oberfläche der Hoden vor. Eine sofort vorgenommene mikroskopische Untersuchung ergab, daß die fleckigen Stellen sehr zahlreiche Sporen einer Microsporidienart enthielten, von denen viele eine ziemlich bedeutende Größe zeigten. Da mir aus den Hoden der Barbe Microsporidien nicht bekannt waren, wurde ein Teil der Hoden konserviert, ein anderer kleiner Teil zum Zwecke der Untersuchung in frischem Zustande bestimmt. Weitere infizierte Fische wurden nicht beobachtet; das Material blieb daher immerhin etwas beschränkt.

Da die Zahl der verschiedenen Entwicklungsstadien der Parasiten, die gefunden wurde, keine sehr erhebliche war, so waren vollständige Aufschlüsse über den Entwicklungszyklus der Microsporidien nicht zu erwarten. Die Untersuchung erwies sich aber trotzdem als lohnend und zwar nicht nur durch das, was wenigstens über manche Punkte der Morphologie und der Entwicklung der Parasiten ermittelt werden konnte, sondern auch durch die sehr merkwürdigen und in verschiedener Hinsicht interessanten Veränderungen der Wirtsgewebe — vor allem der Kerne der befallenen Zellen — die durch ihn hervorgerufen werden.

Vorkommen und pathogene Bedeutung.

Aus den männlichen Geschlechtsorganen der Fische sind Microsporidien meines Wissens bis jetzt noch nicht beschrieben worden. Dagegen erwähnt Keysselitz aus den Ovarien und den Eiern der Barbe, also vom gleichen Wirte, dem die hier beschriebene Form entstammt, eine Microsporidienart, von der jedoch eine Beschreibung noch nicht gegeben wurde (1908, S. 276). Von Interesse ist, daß auch der von Keysse-

litz untersuchte Fisch, ebenso wie der meinige, im Neckar gefangen wurde. Es bedarf natürlich besonderer Feststellung, ob der bei dem weiblichen Tier gefundene Parasit mit der in den männlichen Organen beobachteten Art identisch ist; doch ist dies wohl nicht unwahrscheinlich.

Von Vaney und Conte wurde, ebenfalls in den Ovarien, eine Microsporidienart bei *Alburnus mirandella* Blanch. gefunden und unter dem Namen *Pleistophora mirandellae* beschrieben (1906, S. 644); sie steht der hier behandelten Art jedenfalls sehr nahe oder ist sogar vielleicht mit ihr identisch. Schließlich wurden von Stempell Cysten des von ihm untersuchten *Nosema anomalum* Monz. bei *Gasterosteus aculeatus* außer in anderen Organen gelegentlich auch in Ovarialeiern beobachtet (1904, S. 2); diese Form hatte auch schon Thélohan einmal im Ovarium von *Gasterosteus* beobachtet (1895, S. 356)[1]).

Über Schädigung der Fische durch die in den Geschlechtsorganen vorkommenden Microsporidien liegen Angaben bis jetzt nicht vor. Das von mir untersuchte Exemplar, das in lebendem Zustande gefangen worden war, ließ äußerlich keinerlei Veränderungen erkennen und fiel auch durchaus nicht durch besondere Abmagerung auf. Auch die äußeren Veränderungen des Hodens waren nicht sehr auffällig und konnten wohl sehr leicht übersehen werden; trotzdem entspricht ihnen, wie noch auszuführen sein wird, eine zum Teil vollständige Zerstörung des Hodengewebes an den befallenen Stellen. Dies beweist, daß der Parasit für die Fischart durchaus nicht bedeutungslos sein kann, selbst dann, wenn er keine äußerlich wahrnehmbaren Epidemien, wie sie sich etwa durch massenhaftes gleichzeitiges Verenden vieler Fische kundgeben würden, zu erzeugen imstande sein sollte. Denn die bedeutenden Zerstörungen der Geschlechtsorgane — mögen diese nun auf die männlichen Organe beschränkt sein, oder, wie es nach dem Fund von Keysselitz den Anschein hat, sich auch auf die Ovarien erstrecken können — haben einen ganz erheblichen Ausfall in der Summe der erzeugten Nachkommenschaft zur Folge, die für den Bestand einer Fischart in einem bestimmten Gewässer nicht gleichgültig sein kann. Die Praxis der Fischereiwirtschaft zeigt öfter, daß eine bestimmte Art da oder dort ohne irgendwie erkennbare Gründe nicht recht gedeiht oder zurückgeht. Man wird wohl in Zukunft darauf achten müssen, ob derartige Vorkommnisse nicht auch durch das Auftreten von Microsporidieninfektionen der Geschlechtsorgane bedingt sein können.

Daß eine Protozoeninfektion der Geschlechtsorgane eine Tierart an Stellen, wo sie vorher häufig war, fast völlig zum Verschwinden bringen kann, habe ich gemeinsam mit W. Kunze für den Hirudineen *Herpobdella atomaria* Car. (*Nephelis vulgaris* Moq.-Tand.) wahrscheinlich machen können, der an einer bestimmten Stelle des Neckars, an der er vorher regelmäßig in großer Menge vorkam, infolge der wiederholten massenhaften Infektion der Hoden durch das Coccidium *Orcheobius herpobdellae* fast vollständig ausgestorben war (Schuberg u. Kunze, 1906, S. 234; Kunze, 1907, S. 420).

[1]) Thélohan bezeichnete die Form als „*Glugea microspora* (Thél.)“

Technik der Untersuchung.

Die zur Untersuchung dienenden Stücke des Hodens wurden teils in 10%igem Formol, teils in Alkohol-Eisessig (Absol. Alkohol 95 ccm^3 + Acid. acet. glac. 5 ccm^3) fixiert; die letztere Methode ergab die weitaus besseren Resultate. Leider war jedoch das Material, da der Fisch schon einige Stunden vorher abgetötet worden war, für manche empfindlichere Stadien nicht mehr ganz brauchbar.

Die Färbung der Paraffinschnitte bereitete nicht geringe Schwierigkeiten, da die Zellkerne der Parasiten, besonders in den Sporen, mit den bekannteren Methoden nicht leicht gelingt; welche von diesen benutzt wurden, soll, soweit notwendig, im Text und in der Figuren-Erklärung bemerkt werden. Besondere Erwähnung verdient nur eine Modifikation der Giemsaschen Eosin-Azurfärbung, da sie sehr wertvolle Dienste leistete, und die ich schon seit langer Zeit verwende; wie ich später sah, hat sie auch schon v. Prowazek (1907, S. 30) angeführt [1]).

Man behandelt die Schnitte wie sonst — ich färbte in dem verdünnten Giemsa-Gemisch (1 Tropfen auf 1 ccm^3 Wasser) 3 Stunden — wäscht in Wasser aus, vermeidet aber dann den Alkohol und führt, unter einmaligem Wechseln, durch Azeton und Xylol in Canadabalsam über. Die so gefärbten Präparate sind sehr gut haltbar; ich besitze Schnitte, welche seit einem Jahre noch nichts von ihrer ursprünglichen Güte eingebüßt haben. Mit der modifizierten Giemsa-Färbung gelingt es, die Kerne selbst in den Sporen leuchtend purpurrot zu färben, während das Protoplasma einen blauen Ton annimmt. Die Färbung ist dann am besten, wenn auch das Chromatin der Gewebezellen einen purpurroten Ton zeigt; ist dieses blau gefärbt, so erscheint auch die Kernfäbung der Parasiten weniger gut.

Die Polfäden der Sporen zum Ausschnellen zu bringen, gelang nur am frischen Material, und auch hier nur bei einem Teil der Sporen, die über Nacht mit Ammoniak behandelt wurden. Das auf dem Objektträger angetrocknete Material wurde dann mit Löfflerschem Methylenblau gefärbt.

Verteilung der Parasiten im Hoden.

Wie schon eingangs erwähnt, waren die infizierten Hoden äußerlich wenig verändert. Ihre Oberfläche zeigte kleinere und größere weißliche Flecken, die höchstens ganz flach vorgewölbt waren (Taf. IX. Fig. 38). Ihre Verbreitung über den Hoden war ganz unregelmäßig; an manchen Stellen standen sie dichter zusammen, an anderen Partien fehlten sie fast ganz.

Die beste Übersicht über das Vorkommen der Microsporidien in den Hoden, über ihre Masse und Verteilung, wie über die von ihnen verursachten krankhaften Erscheinungen geben Querschnitte durch einen ganzen Hoden. Als Typus eines solchen kann Fig. 1 (Taf. VI) dienen, wiewohl sie nicht den stärksten Grad der Infektion, der gefunden wurde, wiedergibt.

---

[1]) Zusatz bei der Korrektur: Neuerdings hat Giemsa im wesentlichen die gleiche Modifikation seiner Methode in der Deutschen medizinischen Wochenschrift 1909, Nr. 40 beschrieben. Hierdurch veranlaßt, habe ich meine unabhängig von Giemsa gewonnenen Erfahrungen ebenfalls in der Deutschen mediz. Wochenschr. 1909, Nr. 48 mitgeteilt.

Der Querschnitt des dreiseitig-prismatischen Hodens der Barbe besitzt einen ungefähr dreieckigen Umriß; die eine Seite zeigt einen tiefen Einschnitt, den Hilus, an welchem die Blutgefäße usw. eintreten und das Vas. deferens verläuft. Nach diesem Punkte hin sind alle Kanälchen gerichtet; gegen die Oberfläche zu sind sie dichotomisch geteilt. Unmittelbar unter der Oberfläche sieht man, auf genau getroffenen Querschnitten des Hodens, eine ziemlich regelmäßig angeordnete, zur Oberfläche etwa senkrecht gerichtete radiäre Zone, in der sich ebenfalls noch dichotomische, spitzwinklige Verzweigungen finden. Anastomosen zwischen den einzelnen Hodenkanälchen wurden niemals angetroffen.

Die untersuchten, Ende Juli konservierten Hoden befanden sich im Zustande der Ruhe, da die Laichzeit der Barbe in den Juni fällt. Reifes Sperma fehlte daher vollständig.

Wie aus der Anordnung der Hodenkanälchen hervorgeht, weicht das Verhalten der Barbe von dem für die andern Cyprinoiden als typisch angegebenen ab, bei denen die einzelnen Schläuche durch Anastomosen verbunden sind, und nähert sich dem besonders durch die Acanthopteren vertretenen Typus, bei dem solche Anastomosen fehlen[1]).

Das normale Bild des Hodenquerschnitts zeigt sich durch die Anwesenheit der Microsporidien in sehr weitgehendem Maße gestört. Am besten tritt das natürlich an solchen Präparaten hervor, in denen die Parasiten durch besondere Färbung auffallen. Da sich diese in meinem Materiale meistens schon im Sporen-Zustand befanden und es sich zeigte, daß die Sporen durch Säurefuchsin kräftig gefärbt werden, so eignen sich hierzu recht gut Schnitte, die mit einer Hämatoxylinlösung (z. B. Hämacalcium, Eisenhämatoxylin nach Weigert) und Säurefuchsin behandelt sind. Das normale Hodengewebe erscheint dann dunkelblau oder violett, die Sporenmassen dagegen rot; außerdem treten aber auch die pathologisch veränderten Gewebeteile deutlich hervor.

In Figur 1 sind große rundliche oder unregelmäßig gelappte Massen zu sehen, die sich bei stärkeren Vergrößerungen als dichte Anhäufungen von zahlreichen, meist schon Sporen enthaltenden Pansporoblasten erweisen (z. B. bei 3, 4, 5). Die meisten von ihnen liegen ziemlich oberflächlich, nur zwei in der Tiefe, nahe dem Hilus. Mitunter findet man derartige Sporenmassen noch in viel größerer Ausdehnung an der Oberfläche des Hodens verbreitet. Man bemerkt ferner, daß manche Kanälchen nicht, wie die meisten normalen, blau, sondern rot gefärbt sind (bei 1 und 2); stärkere Vergrößerung erweist auch hier, daß die Rotfärbung dadurch bedingt wird, daß die Kanälchen dicht mit Parasiten erfüllt sind. Nicht selten erscheinen die gegen die Hodenoberfläche gerichteten blinden Enden der Kanälchen etwas aufgetrieben. Schließlich bemerkt man Stellen, an denen die Hodenkanälchen nur durch hellere Flecken angedeutet erscheinen (bei 6 und 7). Bei ihnen handelt es sich um völlig verödete Kanälchen, bei welchen in der Regel weder von dem ursprünglichen Epithel noch von den Parasiten eine Spur vorhanden ist. An den stark infizierten oder verödeten

[1]) Hierauf hat schon Brock aufmerksam gemacht (1878), im übrigen dürfte der genauere Bau des Teleosteerhodens eine erneute Bearbeitung verdienen.

Partien zeigt in der Regel auch die bindegewebige Zwischensubstanz des Hodens eine mehr rötliche Färbung, was auf Wucherungen und Veränderungen des Bindegewebes beruht (s. unten).

Bei der ersten Beobachtung fielen natürlich zunächst die großen Sporenmassen auf; es zeigte sich indessen bald, daß für die Untersuchung die schwächer infizierten Kanälchen günstiger sind. Da, wie schon aus dem Vorhandensein der großen Sporenmassen vermutet werden konnte, die Parasiten zum weitaus größten Teil ihre Entwicklung vollendet hatten, und sich überdies die Konservierung für die anscheinend in geringerer Anzahl noch vorhandenen früheren Stadien nicht als günstig herausstellte, so sollen als Ausgangspunkt für die Beschreibung Pansporoblasten dienen, die schon reife Sporen enthalten.

Pansporoblasten mit Sporen und Sporoblasten.

Die reifen Pansporoblasten sind etwa kugelige Blasen, deren Durchmesser in ziemlich weiten Grenzen, von etwa 18—45 μ wechselt; sie besitzen eine dünne, aber deutliche, wenn auch nicht stark färbbare Hülle (Taf. VI, Fig. 2, 3; Taf. IX, Fig. 39—42). Die Zahl der von dieser umschlossenen Sporen ist überaus wechselnd; meist sind es sehr viele, jedenfalls nicht nur acht. Die vorliegende Form gehört demnach in das Genus *Plistophora* Gurley, dem ich sie als *Pl. longifilis* n. sp. einordne.

Auf dem etwa kreisförmigen Durchschnitt eines Pansporoblasten kann man nicht selten zwischen 20 und 30 Sporen zählen, woraus folgt, daß die Gesamtzahl, welche die kugelige Hülle enthält, erheblich größer sein muß.

Auffällig ist der Größenunterschied der Sporen, der schon bei schwacher Vergrößerung bemerkbar wird (Taf. VIII, Fig. 37). Noch deutlicher wird er bei Anwendung stärkerer Objektive, die überdies die Gewißheit gibt, daß es sich nicht etwa um verschiedene Entwicklungsstadien handelt, sondern daß tatsächlich die reifen Sporen in der Größe so außerordentlich variieren. Sehr lehrreich ist der Vergleich, von Taf. VI, Fig. 2 und 3, von denen die erste mit 1000facher, die letztere mit 1500facher Vergrößerung gezeichnet ist. Die Messung ergibt, daß große Sporen einen Längsdurchmesser von bis 12 μ und einen Querdurchmesser bis 6 μ besitzen, während kleine Sporen bis zu 3 und 2 μ Längsdurchmesser und entsprechendem Querdurchmesser herabgehen; in der Regel sind die kleinsten Sporen weniger langgestreckt als die großen.

Die Maße der Pansporoblasten sind denen der von ihnen umschlossenen Sporen nicht immer proportional. Dies ist nicht in allen Fällen mit Sicherheit zu beurteilen; denn wenn man auf Schnitten Pansporoblasten mit kleinerem Durchmesser beobachtet, so ist nicht ausgeschlossen, daß es sich hierbei um solche, die nicht in ihrem größten Durchmesser durchschnitten wurden, handelt. Anderseits zeigt ein Überblick über Taf. VIII, Fig. 37, daß Pansporoblasten mit kleinen Sporen einen ebenso großen maximalen Durchmesser wie manche mit großen Sporen erreichen können. Immerhin betrug der Durchmesser der Pansporoblasten mit kleinen Sporen im Maximum 30 μ, während er bei solchen mit großen Sporen bis zu 45 μ ansteigen kann.

Die Variabilität in der Größe der Sporen ist bei Microsporidien nicht selten. Schon Thélohan (1895, S. 290) gibt an, daß man bei verschiedenen Arten von Glugeiden ziemlich häufig Sporen finde, die bedeutend größer seien, als die anderen. Sie sollen viel länger sein und in der Mitte eine Einschnürung besitzen. In Übereinstimmung mit Balbiani betrachtet er solche Formen als Ergebnisse einer Verschmelzung zweier Sporen und verweist zum Beweise dafür auf Beobachtungen von ihm und Henneguy an *Thelohania giardi* (1892, Fig. 20). Diese Vorkommnisse, über deren Natur hier nicht geurteilt werden kann, sind indessen anderer Art, als die Variabilität der *Plistophora*-Sporen aus dem Hoden von *Barbus*, die uns hier beschäftigt. Denn nach den Abbildungen zu schließen handelt es sich bei Thélohan (1895, Fig. 125) um Sporen verschiedener Größe, die innerhalb der gleichen Pansporoblastenhülle liegen, während im vorliegenden Falle die Sporen verschiedener Pansporoblasten verschieden groß sind.

Indessen sind auch derartige Fälle bekannt. Von *Nosema* (*Glugea*)*bombycis* hat Kulagin, von *Nosema varians* Léger und von *Plistophora mirandellae* Vaney und Conte (1901, S. 645) einen Dimorphismus der Sporen beschrieben. Stempell berichtete über abnorm große Sporen bei *Thelohania mülleri* (1902, S. 256, 257) und bei *Nosema anomalum* (1904, S. 13, 31 u. a.). Lutz und Splendore beobachteten recht wechselnde Größe der Sporen bei verschiedenen Arten (1903, 1904, 1908) und Hesse (1904, S. 570) fand bei *Thelohania legeri* aus den Larven von *Anopheles maculipennis* zweierlei Sporen, die er, wie schon Vaney und Conte, als „Macrosporen“ und „Microsporen“ unterscheidet.

Über die Bedeutung der verschiedenen Größe der Sporen ein bestimmtes Urteil zu fällen, erscheint mir zurzeit nicht möglich. Vaney und Conte geben an, daß die „Macrosporen“ von *Plistophora mirandellae* durch Einreißen der reifen Cysten in das umgebende Bindegewebe gelangten, während dies bei den Cysten mit „Microsporen“ nicht der Fall sei. Sie glauben hieraus schließen zu können, daß die Macrosporen zur Verbreitung der Krankheit innerhalb des Wirtstieres dienen, während die Microsporen zur Verbreitung außerhalb des Wirtes bestimmt seien. Mir selbst liegen keinerlei Beobachtungen vor, welche diese Ansicht zu stützen vermöchten. Denn in den großen Sporenansammlungen (S. 404) liegen große und kleine Sporen beieinander und von einer zerstreuten Ausbreitung der großen Sporen im Bindegewebe des Hodens habe ich nichts gesehen. Übrigens widerspricht die Auffassung von Vaney und Conte allem, was wir sonst bei Sporozoen von der Bedeutung der Sporen wissen, die stets zur Verbreitung außerhalb des Wirtstieres dienen.

Eines darf man wohl mit Bestimmtheit sagen, nämlich, daß die Sporen verschiedener Größe nicht verschiedenen Arten angehören; hiergegen spricht ihre wenigstens in dem mir vorliegenden Falle regellose Durcheinandermischung, wie das auch sonst häufige Vorkommen von Sporen verschiedener Größe in dem gleichen Wirtstiere überhaupt. Nicht ohne Interesse ist diese Feststellung vielleicht für die Frage nach der Bedeutung der verschiedenen Sporengröße bei anderen Sporozoen, besonders für die Zahl der im Regenwurm vorkommenden *Monocystis*-Arten.

Die Gestalt der Sporen ist, wie sie für viele Microsporidien beschrieben wird,

birnförmig. Jede Spore besteht aus einem größeren, breiteren und einem kleineren, etwas schwächeren Stücke, an deren Vereinigungsstelle eine seichte ringförmige Einbuchtung die Sporenoberfläche umgibt. Dadurch, daß sich an dieser Zone das stark färbbare Protoplasma der Wand der Spore anschmiegt, tritt sie im gefärbten Präparat noch deutlicher hervor, als im frischen Zustande, wo sie indessen auch zu erkennen ist. In Übereinstimmung mit der Bezeichnungsweise früherer Autoren soll der Bequemlichkeit halber die kleine schmälere Partie der Spore als die „vordere", die breite und größere als die „hintere" bezeichnet werden.

Die Hülle der Sporen ist nicht besonders dick und färbt sich im allgemeinen nicht sehr stark. Mit Giemsalösung nimmt sie meist einen violetten oder rötlich-violetten Ton an (Fig. 7—11). Stärker gefärbt wird sie mit sauren Anilinfarben, wie Säurefuchsin, Lichtgrün, Wasserblau u. a. Von diesen Farbstoffen ist besonders der erstgenannte sehr geeignet, die Sporen in Präparaten, die mit Weigerts Eisenhämatoxylin gefärbt sind, hervortreten zu lassen, da, bei richtiger Anwendung, die meisten andern Gewebe sich nicht sehr stark rot färben; die Methode kann daher benutzt werden, um die Verbreitung der Sporen, bezw. der Parasiten überhaupt, im Schnitte deutlich zu machen (Fig. 1).

Das Aussehen des Sporeninhalts ist je nach der verwandten Methode sehr verschieden. Am frischen Objekt war nur sehr wenig zu sehen: eine blasse quere Zone an der Einschnürung und einige ebenfalls blasse, ringförmige Streifen oder Reifen in der hinteren Sporenhälfte bilden so ziemlich alles, was am frischen Präparat beobachtet werden konnte.

Die wertvollsten Dienste zur Aufklärung des inneren Baues der Sporen leistete mir die Anwendung der Giemsafärbung auf feine, bis zu 3 μ dünne Schnitte, mit nachfolgender Azetonbehandlung. Die weitaus meisten Sporen zeigten hierbei das gleiche Verhalten; eine gewisse Anzahl wich jedoch in mancher Hinsicht hiervon ab.

Bei allen reifen Sporen fällt ohne weiteres die dunkelblau gefärbte Zone auf, welche die Sporen in der Gegend der Einschnürung in querer Richtung durchsetzt (Fig. 2, 3, 7—11). Daß diese scheinbare quere Brücke (p) aus Protoplasma besteht, unterliegt keinem Zweifel; sie färbt sich in dem gleichen blauen Farbenton, wie die sicher aus Protoplasma bestehende Hauptmasse der unreifen Sporen und Sporoblasten (Fig. 21—25), nur etwas dunkler als diese, worauf noch zurückzukommen sein wird. Die Untersuchung mit stärksten Vergrößerungen (Apochr. 2 mm, Comp. Oc. 18) ergibt nun, daß die scheinbar quere Brücke eine ringförmige, der Wand der Sporen anliegende Zone darstellt, die sich an der Wand etwas verbreitert; es ist eine in der Mitte durchbrochene bikonkave Scheibe, durch deren Öffnung die Hohlräume des vorderen und des hinteren Sporenteils miteinander verbunden sind. Daß es sich tatsächlich um einen Ring handelt, lehrt nicht nur die Untersuchung der Längsansicht der Sporen (Fig. 7—9), sondern auch, und zwar noch deutlicher, die Betrachtung aufrecht stehender quergeschnittener Sporen (Fig. 12, 13, 16). Letztere Ansicht zeigt auch, was schon die Längsansicht mitunter vermuten läßt, daß der Ring ungleichmäßig breit ist; er ist einem Siegelring vergleichbar (Fig. 13, 16). Sowohl bei Längs-, wie

bei Querschnittsbildern sieht man gelegentlich, daß die Öffnung des Ringes von einem queren, meistens etwas heller gefärbten Strang durchsetzt wird (Fig. 7, 13).

An der dicksten Stelle des Rings befindet sich bei gut gelungener Giemsafärbung ein etwa ovaler leuchtend rot gefärbter Fleck: der Kern (k, Fig. 7—9, 11—13, 16). Das Verhältnis der Färbung zwischen Kern und Protoplasma ist genau das gleiche wie es sonst von gut gelungenen Giemsa-Präparaten anderer Protozoen, wie Trypanosomen, Piroplasmen, Hämosporidien usw. allgemein bekannt ist. Da die Kernverhältnisse der Sporen in der Regel anders geschildert werden (s. unten), sei dies schon an dieser Stelle betont.

Die Mehrzahl der Sporen läßt nun in Giemsa-Präparaten außer den geschilderten Verhältnissen nicht viel anderes erkennen. In der Regel bemerkt man (Fig. 7, 8) in dem hinteren Teil der Sporen mehr oder weniger deutlich einige schwach gefärbte ringförmige, mitunter auch (Fig. 8) einen schräg aufsteigenden Streifen und in dem vordern Teil einen nach dem Pole hinziehenden, senkrecht von der ringförmigen Protoplasmazone aufsteigenden Strich (Fig. 8, 9).

Ist die Färbung der Sporen etwas stärker ausgefallen, dann ist in der Regel der Kern nicht zu erkennen (Fig 10, 14, 15) vermutlich nur deshalb, weil er durch die tief blaue Färbung des ihn umschließenden Protoplasmas verdeckt wird. Die ringförmigen Reifen und der nach dem vorderen Pole der Sporen ziehende Streifen erscheinen dann etwas deutlicher (Fig. 10); letzterer zeigt mitunter eine Gabelung.

In jedem Schnitte findet sich aber eine Anzahl von Sporen, die eine viel intensivere Färbung angenommen haben. Das Protoplasma hat gewöhnlich die normale Ringform (Fig. 14) und verdeckt vollständig den Kern; nur in einzelnen Fällen bildet er einen asymmetrisch gelegenen Klumpen (Fig. 15), was wohl auf eine Degeneration des Soreninhalts hinweist. Die Sporenwand ist dagegen, besonders in dem hinteren Teil der Spore, intensiv karminrot gefärbt und läßt etwa sechs dunklere reifartige Zonen erkennen (Fig. 14), die, nach dem optischen Längsschnitt zu schließen, ziemlich flach sein müssen, da sie im Innern nicht sehr weit vorspringen. Sie beruhen auf der Aufwindung des Polfadens der Spore; jedoch entsprechen die einzelnen Reifen, wie noch später zu erörtern sein wird, nicht einem einfachen Umgang desselben. In der vorderen Partie der Spore, die heller erscheint, sind derartige Reifen nicht zu sehen, dagegen tritt der vom Protoplasmaring entpringende häufig gegabelte und nach dem Pol ziehende Streifen noch deutlicher hervor, als bei den schwächer gefärbten Sporen; mitunter werden auch noch quere, fädige Züge sichtbar (Fig. 14).

In der Regel scheint der Hohlraum der Sporen, abgesehen von dem gegabelten Streifen des vorderen Sporenteils und dem Polfaden, welcher der Wand dicht anliegt, leer zu sein. Nicht selten aber enthält er Einlagerungen, die zwar ein etwas verschiedenartiges Aussehen haben können, trotzdem aber gleicher Natur sein dürften. Sie finden sich sowohl in schwächer, wie in stark gefärbten Sporen, in letzteren anscheinend häufiger. Mitunter findet man nur einzelne kleinere stark rot gefärbte Körnchen, die da und dort, besonders an den beiden Polen der Hülle anliegen (Fig. 10m); oder die Pole sind, offenbar infolge direkter Zusammenhäufung der gleichen Substanz, mit stark gefärbten Kappen versehen (Fig. 14, 15 m), neben denen auch

noch einzelne Körnchen vorkommen können. Bei stärkerer Ausbildung enthält der hintere Sporenteil etwas größere Klumpen der rot gefärbten Substanz (Fig. 10m), die dicht an der Hülle oder frei im Innern liegen. Beim Vorhandensein größerer, klumpiger Massen (Fig. 9, 15), die sich bis zum Protoplasma hin erstrecken können (Fig 15 m), erscheinen sie tief dunkelrot oder violett (Fig. 9m). Daß diese, mit Giemsalösung stark rot oder rotviolett gefärbten Massen nicht etwa den Kern darstellen, geht auch daraus hervor, daß dieser in seiner oben beschriebenen, gewöhnlichen Lage, innerhalb des Protoplasmarings oft deutlich nachzuweisen ist (Fig. 9).

Färbungen mit Karmin und Hämatoxylin sind zur Untersuchung der reifen Sporen wenig geeignet; jedenfalls gewähren sie keine Aufklärung über die Kernverhältnisse. Karmin gibt viel zu schwache Färbungen und die meisten Hämatoxylinlösungen färben das Protoplasma so dunkel mit, daß der Kern nicht hervortritt. In solchen Präparaten sieht man immer nur die quere Brücke, als welche der Protoplasmaring im optischen Längsschnitt erscheint. Von Hämatoxylinlösungen kommt allein die Eisenhämatoxylin-Methode von M. Heidenhain, sowie deren, im wesentlichen die gleichen Resultate ergebende Modifikation nach Breinl in Betracht.

Allerdings fand ich diese Methoden zur Färbung der Kerne sehr wenig geeignet, und ich muß das um so mehr betonen, als gerade die Heidenhainsche manchen Angaben über den Bau der Sporen, so z. B. von Stempell (1904) und von Mercier (1908) zur Grundlage gedient hat. Die Mannigfaltigkeit der Bilder, die durch verschiedene Grade der Extraktion des Farbstoffs erzielt werden können, ist eine sehr große. Nicht häufig gelingt es, den Kern in der Weise zu erhalten, wie er in den Giemsapräparaten erscheint (Fig. 20). In der Regel bleibt die Färbung in den der Sporenhülle anliegenden Teilen des Protoplasmarings am längsten bestehen, so daß, wenn diese entfärbt sind, auch die Färbung des Kerns verschwunden ist. Ist der Farbstoff aus dem Protoplasma noch nicht ganz ausgezogen, so kann dieses dadurch, daß seine Färbung im optischen Durchschnitt verstärkt erscheint, das Vorhandensein zweier Kerne vortäuschen (Fig. 20), besonders dann, wenn aus dem Kern selbst die Farbe schon ausgezogen ist. Weitere Täuschungen über die Anwesenheit von Kernen beruhen auf anderen Extraktionsbildern. So können vier Kerne vorhanden zu sein scheinen, wenn der Protoplasmaring, wie z. B. in Fig. 7 und 9, stark bikonkav ist. Dann ziehen sich gegen beide Pole der Spore zu an der Hülle dünne Lagen von Protoplasma hinauf, aus denen die Färbung weniger leicht ausgezogen wird, als aus den übrigen Partien des Protoplasmarings; die hierdurch gebildeten Zonen erscheinen dann im optischen Durchschnitt als vier Kerne. Ganz ähnliche Erscheinungen können durch partielle Extraktion des der Wand anliegenden Polfadens zustande kommen; indessen ist es nicht möglich, auf alle die mannigfaltigen Bilder, die bei Eisenhämatoxylinfärbung durch verschiedene Grade des Farbstoffs entstehen können, im einzelnen einzugehen.

Sehr lehrreich ist dagegen diese Färbung, wenn sie nicht oder nur wenig ausgezogen wird; und da die Extraktion der durch ihre Membran geschützten Sporen natürlich meist viel langsamer erfolgt, als die der hüllenlosen Sporoblasten und der Gewebekerne, so findet man in jedem Präparat, auch wenn es zum Zwecke der Kern-

färbung mit Eisenalaun differenziert wurde, eine gewisse Anzahl von Sporen, deren Entfärbung noch nicht eingetreten ist. Derartige, dunkel gefärbte Sporen zeigen die Vorzüge der scharfen und klaren Färbung des Eisenhämatoxylins ohne die Gefahren der Extraktion. Mit andern Farbstoffen, besonders sauren Anilinfarben, sind im wesentlichen ähnliche Ergebnisse zu erzielen, doch sind die schwarzen Hämatoxylinfärbungen klarer.

An solchen Sporen ist die Membran ziemlich dunkel und erscheint im optischen Durchschnitt als schwarze Linie von nicht sehr erheblicher Dicke (Fig. 17—19). Der Protoplasmaring (p) ist ebenfalls tiefschwarz gefärbt, der durch ihn abgetrennte vordere Teil der Spore heller als der hintere; letzterer erscheint oft so dunkel, daß Einzelheiten kaum zu erkennen sind. In der Regel bemerkt man aber doch, mit starker Vergrößerung, daß 5 bis 7 dunkle Reifen, die der Hülle dicht anliegen, die Spore umziehen (Fig. 17, 19). Diese Reifen lassen mitunter eine ihrem Verlauf entsprechende zarte Streifung erkennen; sie sind nicht immer gleich breit und nicht ganz regelmäßig, indem sie sich voneinander entfernen oder, bisweilen bis zur Berührung und teilweiser Aneinanderlagerung, sich einander nähern. Mitunter bemerkt man einen die Streifen schräg durchschneidenden (Fig. 17), öfters auch einen gegen den Protoplasmaring hin sich fortsetzenden Streifen (Fig. 19). Vom Protoplasmaring aus verläuft regelmäßig ein gegen den vorderen Pol der Spore hinziehender spitzkonischer Strang (Fig. 17, 18, 19), der sich meist, bevor er den Pol erreicht, wiederholt gabelt. Den Gabelästen ähnliche fadenartige Stränge durchsetzen mehrfach den Hohlraum noch in andrer Anordnung (Fig. 17). Der gegen den Pol zu verlaufende, vom Protoplasmaring entspringende Strang liegt bald in der Achse des kleineren Sporenteils (Fig. 17, 18), bald mehr exzentrisch und asymmetrisch (Fig. 19).

Wie aus der Beschreibung hervorgeht, stimmt das, was man an den mit Eisenhämatoxylin gefärbten und nicht differenzierten Sporen sieht, mit den durch die Giemsalösung dunkler gefärbten Sporen durchaus überein (Fig. 10, 14, 15).

Von großem Interesse sind schließlich noch einige Färbungsversuche, die mit Rücksicht auf die klumpigen Massen und Körnchen, welche sich mit Giemsalösung mitunter stark rot oder rotviolett färbten, angestellt wurden.

Es zeigte sich, daß sie sich mit Toluidinblau ziemlich ähnlich färbten, wie mit Giemsalösung, nämlich karminrot, während alle andern Teile des Präparats den blauen Ton des Toluidinblaus annahmen. Die Kerne der Sporen waren nicht zu erkennen, die der Sporoblasten waren, soweit sie deutlich wurden, ebenfalls blau. Diese Metachromasie der in Rede stehenden Körper gab Veranlassung, auch polychromes Methylenblau und Thionin zu versuchen. Während sie ersteres, im Gegensatz zu der sonstigen Blaufärbung des Präparates, in einem etwas bräunlich-karminroten Ton erscheinen ließ, ergab Anwendung von Thionin merkwürdigerweise eine dunkel-graubraune Färbung, die mit der sonstigen Violettfärbung kontrastierte.

Wie bei Giemsafärbung war es immer nur eine gewisse Anzahl von Sporen, welche die Klumpen und Körnchen in der betr. charakteristischen, stets metachromatischen Färbung erkennen ließen.

Schließlich wurde noch Mucikarmin versucht, das jedoch keine charakteristische

Färbung ergab. Die bisherige Darstellung stützt sich auf die Untersuchung großer Sporen, an denen naturgemäß alle Verhältnisse viel besser und klarer zu beobachten sind. Mit ihnen stimmen jedoch die kleinen Sporen im wesentlichen überein (Fig. 3, 11, 16). Als Unterschied kann angeführt werden, daß das Protoplasma einen verhältnismäßig größeren Raum in der Spore einnimmt und etwas weniger als bei den großen Sporen dem vorderen Pol genähert liegt; auch gelingt es im allgemeinen nicht, Einzelheiten in der Anordnung des Polfadens zu sehen, der aber auch hier der Hülle anliegt. Die klumpigen Massen im Innern der Spore sind ebenfalls vorhanden und zeigen die gleichen charakteristischen Metachromasien wie die der großen Sporen.

Den Polfaden zum Ausschnellen zu bringen, ist mir nur an frischem Material gelungen, und zwar an Sporen, die mit Ammoniak behandelt wurden. Wasser, Jodlösung, Kalkwasser, 10%ige Salzsäure führten zu keinem, heiße konzentrierte Salpetersäure zu einem nicht befriedigenden Ergebnis.

Die ausgeschnellten Polfäden sind sehr fein, nur nahe der Austrittsstelle etwas verdickt und ganz außerordentlich lang (Fig. 27—31). Ich maß Polfäden von 380 bis 450, ja von 480 und 510 μ, also bis etwa $^1/_2$ mm. Stempell spricht bei *Nosema anomalum* von Polfäden, welche „die geradezu ungeheuerliche Länge von 150 μ erreichen“ (1904, S. 29) und Cépède (1906, S. 15) hebt die Länge von 225 μ bei *Plistophora macrospora* als beträchtlich hervor. Die Fäden von *Plistophora longifilis* sind noch $3^1/_2$ mal so lang als die von *Nosema anomalum*, obwohl die Sporen nur etwa doppelt so groß werden, und doppelt so lang als bei *Plistophora macrospora*, deren Sporen $^2/_3$ mal so groß sind als die von *Plistophora longifilis*. Der Polfaden von *Nosema anomalum* ist etwa 25 mal so lang als die Spore, der von *Plistophora macrospora* $20^1/_2$ mal, bei *Plistophora longifilis* kann er mehr als die 41 fache Länge der Sporen erreichen.

Bei der großen Feinheit der Fäden ist es natürlich nicht möglich, sie bei schwacher Vergrößerung in genau entsprechender Feinheit wiederzugeben (Fig. 30 u. 31).

Der ausgeschnellte Polfaden sitzt der Spore in der Regel nicht terminal, sondern etwas seitlich an, was Stempell auch für *Nosema anomalum* angibt (1904, S. 29). Die Form der leeren Hülle erscheint in den Präparaten gegen die normale Gestalt etwas verbreitert und mehr gleichmäßig oval; ich glaube jedoch, daß dies wenigstens zum Teil auf dem Antrocknen bei der Präparation beruht und nicht nur durch das Austreten des Fadens zustande kommt. Auch die intensive Färbung der Pole dürfte wohl nur durch das Antrocknen bedingt sein, indem hier die Hülle zusammenfällt und deshalb auch den Farbstoff festhält (Fig. 27, 28). Bei manchen Sporen bemerkte ich im gefärbten Präparat eine schmale dunklere Zone, die etwas über dem Äquator, mehr der Austrittstelle des Polfadens genähert, die Spore in querer Richtung durchsetzt und einen ovalen Körper einschließen kann (Fig. 27, 28 p). Ich glaube, daß es sich hierbei um den Rest des Protoplasmarings mit dem Kern handelt, was ein Vergleich mit den ruhenden Sporen nicht unwahrscheinlich macht. Das Protoplasma wäre also bei diesen Sporen nicht als Amoeboidkeim ausgetreten. Da die Sporen mit Ammoniak behandelt waren, ist dies wohl auch nicht zu erwarten und es wäre wohl recht gut verständlich, daß die Veränderungen, die das Protoplasma

im Vergleich mit unversehrten Sporen aufweist, auf der deletären Wirkung des Ammoniaks beruhen. Als quere Faltung der Spore kann man die quere Zone nicht auffassen; vom Aussehen derartiger Falten, die durch das Zusammenfallen der Spore beim Antrocknen bedingt werden, gibt Fig. 29 eine Vorstellung. Wenn diese quere Zone, wie ich es für wahrscheinlich halte, den Rest des Protoplasmaringes mit dem Kern darstellt, so geht aus ihrer Lage hervor, daß der Polfaden, entsprechend den Angaben andrer Autoren, an dem vordern Pol aus der Spore heraustritt. Andre Beweise hierfür kann ich nicht beibringen, da die angetrockneten Sporen mit ausgeschnelltem Polfaden ziemlich gleichmäßig oval erscheinen.

Die Stadien, welche der Spore unmittelbar vorangehen, finden sich in meinem Material in großer Menge und in den der wechselnden Größe der Spore entsprechenden Dimensionen. Die jüngeren Formen, die man als „Sporoblasten" bezeichnen kann, besitzen ungefähr kugelige Form (Fig. 5); ihr Protoplasma färbt sich mit Giemsalösung intensiv blau, erscheint jedoch, meist in der einen Hälfte stärker, vakuolisiert, was wohl indessen zu einem gewissen Teil auf nicht ganz guter Konservierung beruht. Ich vermute dies deshalb, weil die noch früheren Sporontenstadien ähnliche Erscheinungen aufweisen (s. später). Fig. 25 gibt einen zu einer kleineren Spore gehörenden Sporoblasten wieder, der mir das normale Verhalten bewahrt zu haben scheint. Im Innern des Protoplasmas liegt der Kern (Fig. 5), der sich mit Giemsalösung leuchtend karminrot, mit Eisenhämatoxylin schwarz färbt und auch durch andre Kernfarbstoffe, selbst durch Karmin, sich mehr oder weniger gut nachweisen läßt; über seine Kernnatur kann daher ein Zweifel wohl nicht gut bestehen. Eine Hülle ist auf diesem Stadium noch nicht wahrzunehmen.

Im Laufe der weiteren Entwicklung der Sporoblasten zu Sporen tritt nun eine Veränderung der Form ein, indem sich diese mehr in die Länge streckt. Die Vakuolisierung wird stärker, und zwar zunächst an dem vom Zellkern weiter entfernten Teil (Fig. 21, 22), von dem sich das Protoplasma schließlich mehr und mehr gegen die den Kern umschließende Partie zurückzieht. Inzwischen erfolgt die Bildung der nicht sehr starken Sporenhülle, die jetzt an der protoplasmafreien Zone sichtbar wird (Fig. 21, 22). Noch bevor die Zurückziehung des Protoplasmas von einem Pole ihr Maximum erreicht hat, beginnt ein ähnlicher Vorgang an dem dem Kern zunächst gelegenen Pole (Fig. 22, 23), doch schreitet er nicht so weit nach dem Äquator zu fort. Auf diese Weise konzentriert sich allmählich das Protoplasma auf die quere Zone (Fig. 24), wobei es gleichzeitig an Intensität der Färbbarkeit gewinnt. Offenbar ist der größte Teil der im Protoplasma des Sporoblasten ursprünglich enthaltenen Flüssigkeit bei der Umwandlung zur Spore herausgetreten und bildet nun einen Teil von deren Inhalt. Wenn man bedenkt, auf eine wie kleine Zone der zuletzt ringförmige Rest des Protoplasmas in den Sporen zusammengedrängt, man möchte beinahe sagen „zusammengepreßt" ist, dann wird ohne weiteres klar, daß das Protoplasma der Sporoblasten und auch das der Sporonten, aus denen sie hervorgehen, sehr flüssigkeitsreich sein muß. Daraus aber wird die große Empfindlichkeit der früheren Entwicklungsstadien verständlich, die offenbar eine ganz besonders sorgfältige Konservierung erfordern.

Wie der Polfaden und die metachromatisch sich färbenden Inhaltskörper des Sporenhohlraums entstehen, vermag ich nicht anzugeben.

Der Kern ist, wie in den runden, so auch in den langgestreckten Sporoblasten oder heranreifenden Sporen mit Giemsalösung oder Eisenhämatoxylin nach Heidenhain leicht nachzuweisen; er färbt sich aber oft auch schon mit Karmin, Hämalaun, Hämacalcium, Weigerts Eisenhämatoxylin u. a. m. Er liegt stets in der Nähe des schmäleren Pols (Fig. 4, 21—24, 26), in dessen Nähe er auch bei der ausgebildeten Spore im Innern des Protoplasmarings gelegen ist, und zwar immer nahe der Obertläche, was ebenfalls schon der Lage in der reifen Spore entspricht. Stets wurde nur ein Kern gefunden. Bei Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain findet sich zwar ab und zu auch ein oder das andere kleinere schwarze Körnchen im Protoplasma der Sporoblasten gefärbt; die Lage dieser Körnchen ist indessen unregelmäßig und ihre Zahl ist nur dann größer, wenn die Extraktion noch nicht vollständig genug war. Bei längerer Differenzierung bleibt nur ein Kern gefärbt, der nach Lage und Größe mit dem durch die Giemsafärbung nachgewiesenen übereinstimmt.

Von noch früheren Stadien der Entwicklung sind zunächst vielkernige, von einer Hülle umgebene kugelige Gebilde (Fig. 6), deren Kerne durch Giemsalösung lebhaft rot gefärbt werden, zu erwähnen. Es sind offenbar Pansporoblasten, bezw. Sporonten, deren Inhalt im Begriff steht, sich in die einzelnen Sporoblasten zu teilen. Leider erwies sich das Protoplasma als nicht ganz gut konserviert; wenigstens war es etwas unregelmäßig vakuolär. Die Hülle war mitunter etwas dicker als bei den reifen Pansporoblasten; doch kommt auch bei diesen eine dickere Hülle vor, besonders wenn der Inhalt aus kleineren Sporen besteht.

Auf weitere Stadien will ich nur kurz eingehen. Nicht selten fanden sich zwischen Pansporoblasten mit reifen Sporen runde oder etwas ovale Körper, die, wie die letzterwähnten, eine Anzahl Kerne einschlossen; sie waren indessen kleiner und die Zahl der in ihnen enthaltenen Kerne war geringer (Fig. 40 und 42 sp). Ich glaube, man wird nicht fehlgehen, wenn man diese Gebilde als jüngere, noch nicht völlig herangewachsene Sporonten betrachtet, in denen also, während des Heranwachsens, eine Vermehrung der Kerne stattfinden würde. Kleinere solche „Sporonten“ enthalten wenigstens auch eine geringere Anzahl von Kernen (Fig. 40 sp_1, Fig. 42), als die größeren Formen (Fig. 40 sp_2, sp_3). Da das mir vorliegende Material fast ausschließlich Pansporoblasten mit reifen und heranreifenden Sporen oder mit Sporoblasten enthielt, so möchte ich diese vermutlichen jüngeren Sporontenstadien, die mehr nur vereinzelt vorkamen, nur kurz anführen. Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, den Verlauf der früheren Entwicklung und die sich hierbei abspielenden feineren Vorgänge genauer aufzuklären.

Mit Absicht wurde in der bisherigen Darstellung eine Bezugnahme auf die zurzeit geltenden Anschauungen über den Bau der Microsporidien-Sporen möglichst vermieden. Meine Befunde an *Plistophora longifilis* weichen in so erheblicher Weise von ihnen ab, daß eine gesonderte und etwas ausführlichere Besprechung angebracht ist.

Thélohan, der den Polfaden der Microsporidiensporen entdeckte, beschrieb auch zuerst eine Polkapsel. Im frischen Zustand sollte nach seinen Angaben an der Spore nur eine helle Vakuole, an deren dickerem Pole, zu sehen sein (1895, S. 262); erst nach Behandlung mit Salpetersäure werde eine stark lichtbrechende Polkapsel wahrnehmbar. Bei Färbung mit Anilinfarben zeigen die Sporen, mit Ausnahme der ungefärbt bleibenden Vakuole, eine sehr intensive Färbung, die Thélohan der Polkapsel zuschreibt (1895, S. 272). In manchen Fällen jedoch schien die Kapsel keine Farbe anzunehmen und man konnte dann nur gegen die mittlere Partie der Spore zu kleine gefärbte Körnchen unterscheiden, die bald isoliert blieben, bald zu einer kleinen, länglichen, queren Masse vereinigt waren. Diese Elemente, von denen man in der Regel zwei oder drei antreffe, sind nach Thélohans Meinung die Kerne der Spore; es fänden sich also, entsprechend den Verhältnissen bei den Myxosporidien, zwei Kerne, die dem Protoplasma angehören, und ein dritter, der mit der Entwicklung der Kapsel im Zusammenhang stehe.

Diese Darstellung Thélohans blieb lange allgemein anerkannt und ging in die Lehr- und Handbücher über, so Doflein (1901), Doflein und Prowazek (1903), Minchin (1903), Hofer (1906) u. a.

In seiner Arbeit über Myxosporidien geht Doflein (1898) auf den Bau der Sporen bei den von ihm untersuchten Microsporidien nicht näher ein; er erwähnt nur für die Sporen von *Glugea lophii* das Vorhandensein einer Polkapsel und für die von *Gurleya tetraspora* eine „große, helle Vakuole" am stumpfen Ende der Spore. Offenbar gelangte er zu keiner klaren Einsicht in deren Bau. Von *Glugea lophii* bildet er Sporen ab, die von einer dunklen queren Brücke durchsetzt sind (Taf. 23, Fig. 121—123). Eine ähnliche Abbildung von dem gleichen Objekt gibt Mrazek, der übrigens sonst die Beschreibungen und Schlüsse Dofleins über den Bau und die Entwicklung der *Lophius*-Microsporidien mit Recht anzweifelt und für sehr der Nachuntersuchung bedürftig hält. Die quere Brücke in den Sporen, die, wie ein Vergleich mit meinen Figuren lehrt, natürlich nichts anderes ist, als das Protoplasma, wurde dann ferner von Vaney und Conte (1901, S. 645) für *Plistophora mirandellae* Vaney et Conte, *Glugea bombycis* und *Nosema varians* Leger beschrieben, indessen als doppelt-T-förmiger Kern aufgefaßt.

Für die Sporen von *Thelohania mülleri* gab Stempell (1902, S. 254) eine Polkapsel und eine am entgegengesetzten Pol der Spore liegende große Vakuole an. Zahlreiche Abbildungen und eine ausführliche Darstellung des Baues und der Entwicklung der Sporen gab der gleiche Autor dann von *Nosema anomalum* aus *Gobius minutus* und *Gasterosteus aculeatus*. Ein Blick auf die zahlreichen Abbildungen von „Sporen auf verschiedenen Entwicklungsstadien" zeigt, daß Stempells Auffassung vom Bau und der Entwicklung der Sporen auf der Kombination sehr verschiedenartiger Befunde beruht. Die zunächst einkernigen Teilstücke der Sporonten umgeben sich mit einer Hülle, „innerhalb deren sich aus Vakuolen des Protoplasmas die den Polfaden enthaltenden Vakuolen der reifen Sporen bilden, während der Sporenkern unter Abgabe chromatischer Substanzen durch successive Zweiteilungen in vier Kerne zerfällt, von denen zwei als Polkapselkerne, zwei als Amöboidkerne aufzufassen sind. In der Polkapsel

bildet sich ein 150 μ langer Polfaden aus" (1904, S. 32). Das Protoplasma ist in der reifen Spore auf eine quere Zone konzentriert, deren ringförmige Durchlochung Stempell richtig beobachtete (S. 29, Fig. 49, 53, 54, 55). Durch diese Durchbrechung tritt die „vielleicht von einer besonderen Polkapselmembran umgebene" Polfadenspirale hindurch, welche „die ganze hintere Vakuole oder wenigstens einen großen Teil derselben ausfüllt". Immerhin erwägt Stempell die Möglichkeit daß „die Ausdehnung der Polfadenspirale bis in die große Vakuole hinein nicht dem natürlichen Verhalten entspricht, sondern auf einer anormalen Dehnung oder gar Sprengung der Polkapsel und darauf folgender hinteren Verlängerung der Spirale beruht. Auch die scheinbare zentrale Durchbohrung der Protoplasmamasse könnte nur der Ausdruck einer hier liegenden sehr dünnen Stelle sein".

Leger und Hesse (1907) geben an, daß an der Bildung der zweiklappigen Sporenschale zwei Schalenzellen beteiligt seien und die Polkapsel aus einer Polkapselzelle entstehe; die Kerne dieser drei Zellen seien sehr klein. Das Sporenplasma enthalte nur zwei oder einen, dann etwas größeren Kern. Diese Angaben werden von Mercier (1908, S. 34) für *Thelohania giardi* Henneguy aus *Crangon vulgaris* bestätigt und verallgemeinert. Die zuerst einkernigen Sporoblasten werden zwei-, dann dreikernig. Am Ende der Kernentwicklung findet man drei kleine Kerne, die in eine dichtere Cytoplasmapartie eingelagert seien, und zwei cytoplasmatische Platten, deren jede eine Chromatinmasse zeige; diese beiden Elemente stellen die Anlagen der Schalenklappe der Spore dar. In der Mitte des Cytoplasmas entwickle sich, zwischen den drei Kernen und den Schalenklappen, eine Vakuole, durch deren Vergrößerung die Schalenzellen abgeplattet werden. In dieser Vakuole, welcher der eine der drei Kerne anliegt, entwickele sich ein Spiralfaden, sie wird somit zur Polkapsel. Am entgegengesetzten Pole entsteht eine zweite Vakuole. Die beiden übrigbleibenden Cytoplasmakerne bilden die Kerne des Amöboidkeimes, der etwa die mittlere Partie der Spore einnimmt und die Polkapsel, die sich beinahe bis zu der zweiten Vakuole hin ausdehnt, ringartig umfaßt. In manchen Sporen teilt sich jeder der beiden Kerne des Sporenplasmas, welche häufig paarweise durch einen freien Chromatinstrang verbunden bleiben. Damit ist dann ein weiteres Stadium erreicht, das etwa der von Stempell beschriebenen Form der Spore entspricht.

Eine ähnliche Art der Sporenentwicklung hält Schröder (1909, S. 127) für *Thelohania chaetogastris* für wahrscheinlich. Auch er beschreibt ein-, dann dreikernige Sporoblasten; das nächste Stadium, das er fand, erwies sich bereits als junge Spore. „Das Plasma hat sich von den beiden Polen zurückgezogen und ist auf eine bereits gürtelförmige Zone in der mittleren Region beschränkt. Die zentrale Region der Spore wird durch die ovale Polkapsel eingenommen, deren Mündung spitz ausgezogen ist und scheinbar in etwas schräger Richtung gegen den einen Pol der Spore zieht. Die Zahl der Kerne ist auf fünf gestiegen; zwei liegen nebeneinander im Plasma, einer scheinbar der Polkapsel angelagert, und die zwei letzten liegen als Schalenkerne innerhalb der noch nicht ausgebildeten Schale." In den ausgebildeten Sporen ist die Polkapsel ziemlich gut erkennbar und ragt an beiden Polen über den Protoplasmagürtel hinaus." Die Schalenkerne sind nach Heranbildung der Schale unsichtbar ge-

worden; ebenso wurde oft der Polkapselkern vermißt. „Im Plasma liegen entweder zwei Kerne oder nur einer.“ In seiner neuesten Mitteilung über *Nosema bombycis* berichtet schließlich Stempell, daß der Kern der zunächst einkernigen Sporen sich einmal teilt und daß sich in ihnen unter Kondensation des Protoplasmas zwei endständige Vakuolen, sowie ein spiralig aufgerollter Polfaden ausbilden. Die Sporen sollen, erst wenn sie in den Darm einer anderen Raupe gelangen, durch eine weitere Teilung jedes ihrer Kerne vierkernig werden (1909, S. 316).

Wie die eben gegebene Übersicht zeigt, stimmen die Ansichten der verschiedenen Autoren über den Bau und die Einrichtung der Microsporidien-Sporen nicht ganz überein. An dem Vorhandensein einer besonderen Polkapsel im Sinne Thélohans halten die meisten Autoren, so z. B. Leger und Hesse, sowie Mercier und Schröder fest. Stempell (1904) zeigte zwar, daß der Polfaden von *Nosema anomalum* die große „hintere“ Vakuole ganz oder teilweise ausfüllt; aber abgesehen davon, daß er die Möglichkeit eines anormalen Verhaltens in Erwägung zieht, meint er doch, daß die Polfadenspirale „vielleicht von einer besonderen Polkapselmembran umgeben“ sei. Bei *Nosema bombycis* spricht er dann nur noch von zwei Vakuolen und einem spiralig aufgerollten Polfaden, ohne das Wort „Polkapsel“ zu erwähnen. Ich glaube noch weitergehen zu müssen und bin der Ansicht, daß eine besondere Polkapsel überhaupt nicht vorhanden ist. Ich wüßte nicht, was man bei *Plistophora longifilis* als „Polkapsel“ bezeichnen sollte. Der Polfaden liegt in der großen Vakuole dicht und unmittelbar der Hülle der Spore an und auch wenn der lange Faden ausgeschnellt ist, kann in der leeren Sporenhülle von einer besonderen „Polkapsel“ nichts wahrgenommen werden, wie es doch bei den Myxosporidien der Fall ist. Die wenigen Beweise anderer Autoren für andere Objekte scheinen mir so wenig stichhaltig zu sein, daß ich das Vorkommen einer besonderen Polkapsel bei Microsporidien überhaupt bezweifeln möchte. Darauf, daß die Polkapsel erst nach Einwirkung von Reagentien sichtbar werden sollte, wie schon Thélohan angab, will ich kein Gewicht legen. Bemerkenswert ist jedoch, daß von den neueren Untersuchern der Microsporidien-Sporen Stempell bei *Nosema anomalum* die Polkapselmembran nur in einem Schema wiedergibt — er wagt offenbar noch nicht recht, sich von der alten Anschauung ganz loszusagen —, daß sie auch Mercier nur in einer schematischen Abbildung zeichnet, daß Schröder bei dem Gebilde, das er für die Polkapsel hält, keine Angaben über den Polfaden zu machen vermag, und daß schließlich Stempell in seiner neuesten Mitteilung — wohl aus Vorsicht — den Ausdruck „Polkapsel“ ganz umgeht. Demgegenüber können die unzureichenden Abbildungen älterer Autoren, in denen auch von den übrigen Bestandteilen der Spore nichts zu sehen ist — gewiß ein Zeichen, daß sie nicht sehr beweiskräftig sind — nicht in Betracht kommen. Ich glaube daher, daß nicht nur den Sporen von *Plistophora longifilis*, sondern auch denen der Microsporidien überhaupt eine gesonderte Polkapsel fehlt.

Der Polfaden ist vielmehr direkt in die Spore eingeschlossen, und zwar ist er in der großen, hinteren Vakuole, dicht der Sporenhülle anliegend, aufgerollt. Ihren Ausdruck findet die Aufrollung in den reifenartigen Zonen (vgl. Fig. 14, 17—19 u. a.)

die bei intensiver Färbung zu bemerken sind. Daß nun aber diese Reifen nicht etwa dem Polfaden selbst entsprechen, geht schon aus der großen Feinheit des ausgeschnellten Polfadens gegenüber der Breite eines solchen Reifens hervor, wie z. B. ein Vergleich von Fig. 27—29 mit Fig. 17—19 zeigt, wobei nur zu beachten ist, daß der basale Abschnitt des ausgeschnellten Polfadens etwas verdickt erscheint. Aber auch die Länge des ausgeschnellten Polfadens im Verhältnis zum Umfang der Sporen beweist, daß er in viel zahlreicheren Windungen, als der Zahl der Reifen entspricht, aufgewunden sein muß. Wie aus den Figuren hervorgeht, beträgt der Radius (r) des Querschnitts der Spore in der Mitte der großen Vakuole etwa $\frac{1}{4}$ des Längsdurchmessers (l) der ganzen Spore : $r = \frac{l}{4}$; der Umfang (u) des Querschnitts ist also $u = \frac{2\pi l}{4}$ oder $\left(\pi = \frac{22}{7} \text{ gerechnet}\right)$ $l = \frac{7}{11}u$. Eine Messung an einem ausgeschnellten Polfaden (f) ergab nun z. B., daß dieser 52 mal so lang war, als der Längsdurchmesser (l) der Sporen, also $f = 52\,l = \frac{52 \cdot 7}{11}u$; d. h. der Faden muß in der ruhenden Spore etwa 33 mal aufgewunden sein. Da in der Regel etwa sechs „Reifen" an der Spore vorhanden sind, so muß also jeder dieser Reifen ungefähr 5—6 Umgängen des Polfadens entsprechen.

In der kleinen vorderen Vakuole ist der Polfaden nicht mehr spiralig aufgerollt, wie es Stempell für *Nosema anomalum* (1904, Fig. 147) sowie *Nosema bombycis* (1909, S. 317) und Mercier für *Thelohania giardi* (1908, Fig. 15 u. 16) darstellen. Beobachtet hat dies anscheinend keiner der beiden Autoren, denn sie zeichnen dies Verhalten nur in schematischen Abbildungen. In der kleinen Vakuole finde ich selbst stets nur einen an den vorderen Pol der Spore ziehenden Strang, der durch mehrere gabelartig abgezweigte Äste mit der Hülle verbunden ist (Fig. 8—10, 14, 17—19). Ich glaube, daß der in oder neben der Längsachse der Spore nach dem Pol ziehende Strang den sich an der Hülle ansetzenden Teil des Polfadens umschließt und daß die Gabeläste Ausläufer eines Protoplasmaüberzuges sind, durch den er mit dem ringförmigen Protoplasmakörper und mit der Wand der Spore verbunden ist. Der mitunter in der großen Vakuole sichtbare schräg aufsteigende Strang (Fig. 8, 17) stellt vermutlich den Teil des Polfadens dar, welcher die Verbindung mit dem oben erwähnten Strang bewirkt. Jedenfalls kann von einer Aufrollung des Polfadens in der kleinen Vakuole keine Rede sein. Stempell meinte, daß der „Längsstrich" durch Schrumpfung der Polfadenspirale „bei der Vorbehandlung der gefärbten Kanadabalsampräparate" zustande komme (1904, S. 28); daß dies nicht der Fall ist, geht daraus hervor, daß ich ihn mit voller Deutlchkeit auch im ungefärbten Präparat bei Untersuchung in Wasser nachweisen konnte.

Da die vordere Vakuole somit nur von einem kleinen Teile des Polfadens, dem basalen Abschnitt durchsetzt wird, so ist klar, daß wenn man von einer besonderen „Polkapsel" sprechen wollte, diese nur in der großen Vakuole gesucht werden könnte, also an der entgegengesetzten Seite, als sie Thélohan und die meisten anderen Autoren beschrieben. Aus den schon oben angeführten Gründen kann aber meines Erachtens von einer besonderen Polkapsel überhaupt nicht die Rede sein.

Welcher Art der Inhalt der beiden Vakuolen — abgesehen vom Polfaden — sein mag, ist zurzeit nicht sicher zu entscheiden. An den frischen Sporen erscheint der Inhalt vollständig klar und durchsichtig. Auch in den gefärbten Präparaten ist dies bei vielen Sporen der Fall. Nicht selten aber finden sich die oben beschriebenen Körner und Körnchen, die sich mit Giemsalösung rot oder rotviolett, also zum Teil ähnlich wie die Kerne, dagegen mit Toluidinblau und polychromem Methylenblau metachromatisch in rötlichen Tönen, mit Thionin dunkelgraubraun färbten. Daß diese „metachromatischen Körner", wie ich sie nennen will, keine Kerne sind, geht aus ihrem färberischen Verhalten, vor allem aber aus ihrer Einlagerung in die Vakuolen — sie liegen gar nicht im Protoplasma — und aus der ganzen Unregelmäßigkeit ihrer Erscheinung hervor. Es muß dies um so nachdrücklicher betont werden, als sie zweifellos mehrfach, so besonders von Stempell bei *Nosema anomalum*, als Kerne gedeutet worden sind und zum Teil die Grundlage abgeben für die Vorstellungen der komplizierten Entwicklungsvorgänge, die sich an den Sporen der Microsporidien abspielen sollen.

Welcher Natur nun allerdings die metachromatischen Körner sind, darüber kann ich nur Vermutungen aufstellen. Ihr Verhalten bei Färbung mit Toluidinblau und polychromem Methylenblau scheint mir darauf hinzudeuten, daß sie vielleicht aus einer schleimartigen Substanz bestehen könnten, die sich unter Umständen, vielleicht durch den Einfluß der Fixierungsmittel, klumpig zusammenballt und normalerweise den ganzen Hohlraum der Spore ausfüllt. Ich denke mir dabei, daß der Inhalt der Spore nicht einfach eine wässerige Flüssigkeit, sondern eine schleimig-gallertige Substanz sein wird, deren unter bestimmten Bedingungen eintretende Quellung den Polfaden zum Austreten zwingt, in ähnlicher Weise, wie das vielleicht bei den Nesselkapseln der Coelenteraten der Fall ist. Diese Vermutung bedarf freilich noch des genaueren Beweises, soviel aber ist sicher, daß die „metachromatischen Körner" keine Kerne darstellen.

Die Hülle der Spore wurde von Thélohan als zweischalig betrachtet: Thélohan gibt an, daß die Hülle der Sporen von *Thelohania giardi*, die mit der Muskulatur von *Crangon* an *Caridina desmaresti* verfüttert worden waren, im Kote der *Caridina* in zwei Klappen zerfallen gewesen sei (1895, S. 250, 258, 304); eine Längslinie, die er an den Sporen mehrerer Arten beobachtete, betrachtete er ebenfalls als Ausdruck der Zweiklappigkeit der Schale (1895, S. 258). So viel ich sehe, hat die Angabe Thélohans nirgends Bestätigung oder neue Stützen erfahren. Stempell (1902, S. 256) bemerkt sogar ausdrücklich, daß er bei *Thelohania mülleri* niemals etwas davon habe bemerken können und daß die Längslinien, die an den mit Reagentien behandelten Sporen entstehen können, „unschwer als Schrumpfungs- und Faltungsprodukte zu erkennen seien". Auch bei *Nosema anomalum* habe er niemals eine wirkliche Naht der Sporenhülle sehen können (1904, S. 28); er vermutet hier, daß das die kleine Vakuole durchsetzende „zusammengeschrumpfte hintere Ende der Polfadenspirale" von Thélohan als Naht der Sporenhülle gedeutet worden sei. Ich selbst habe jedenfalls niemals eine Zweiklappigkeit bemerkt; Längslinien auf den Sporen erwiesen sich durch die Art ihres Verlaufs jedenfalls immer als Erzeugnisse der Schrumpfung und Fal-

tung, wie Stempell für *Thelohania mülleri* richtig angab, und ich glaube nicht nur, daß die Angaben Thélohans über die Naht der unversehrten Sporen durch solche Erscheinungen zustande kamen, sondern daß auch seine Beobachtungen über das Zerfallen der Sporen unter der Einwirkung der Verdauung auf Irrtum beruhen.

Daß das Protoplasma der Spore sich auf eine ringförmige Zone beschränkt, die nur einem Teil der Sporenwand anliegt, haben schon Stempell (1904), Mercier (1908) und Schröder (1909) richtig gesehen; Stempell zeichnet in seinem Schema der Spore (Fig. 147) außer dem Ring einen die ganze Innenseite der Spore überziehenden Protoplasmabelag, für dessen Vorhandensein ein Beweis indessen nicht erbracht wird, und der auch nach meinen Beobachtungen fehlt. Der sich dem Ende des Polfadens anschmiegende Strang mit seinen nach der Sporenhülle ziehenden dünnen Ästen in der kleinen Vakuole sind die einzigen Protoplasmareste, die ich außer der ringförmigen Zone antraf.

In Widerspruch mit den Angaben anderer Autoren steht auch das, was ich über den Kern ermitteln konnte. Sowohl in den Sporoblasten, wie in den reifen Sporen fand ich stets nur einen Kern. Die von mir als Kerne in Anspruch genommenen Gebilde liegen, höchstens einmal von einem helleren Hof umgeben, im Protoplasma, sie färben sich mit Giemsalösung, wie die Kerne anderer Protozoen — und bei gelungener Färbung in ähnlichem Tone zum Teil die Gewebekerne — leuchtend purpurrot, sie sind ferner, wenigstens bei Sporoblasten und unreifen Sporen, mit Eisenhämatoxylin, z. T. sogar, wenn auch schwach, mit andern Kernfarbstoffen nachzuweisen. Schließlich ist darauf hinzuweisen, daß die Lagerung in den Sporoblasten und unreifen Sporen der in der ausgebildeten Spore entspricht. Nach alledem kann wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß die von mir beschriebenen Gebilde tatsächlich die Kerne darstellen.

Die Darlegung dieser eigentlich so selbstverständichen Dinge ist aus dem Grunde notwendig, weil die andern Autoren Gebilde als Kerne auffassen, von denen jedenfalls ein erheblicher Teil mit solchen nichts zu tun hat, und infolgedessen Darstellungen der Kernentwicklung geben, mit denen meine Befunde in Widerspruch stehen.

Bei den meisten neueren Autoren macht sich, wie mir scheint, das bewußte oder unbewußte Bestreben geltend, die Entwicklung der Kernverhältnisse mit dem, was hierüber bei den Myxosporidien bekannt ist, in Übereinstimmung zu bringen; und ich glaube, daß dieser Umstand dazu geführt hat, Dinge als Kerne gelten zu lassen, die bei ganz vorurteilsfreier Überlegung vielleicht doch nicht als solche betrachtet worden wären.

Dieses Bestreben geht schon auf Thélohan zurück und ist, da er zuerst den ausschnellbaren Polfaden nachwies und eine besondere Polkapsel gefunden zu haben glaubte, durchaus begreiflich. Allerdings, die Körnchen, die er gelegentlich in gefärbten Präparaten antraf und — mit Fragezeichen (S. 391) — als Kerne deutete, sind ebensowenig als solche zu betrachten, wie der doppelt T-förmige „Kern", der von Vaney und Conte beschrieben wurde und, wie schon oben (S. 414) erwähnt, nichts anderes ist als das Protoplasma.

Was Stempell über die Kerne von *Nosema anomalum* angab, ist meiner An-

sicht nach großenteils hinfällig. Zunächst muß auf die von ihm selbst angegebene große Unregelmäßigkeit und Mannigfaltigkeit der Kernentwicklung hingewiesen werden, die doch eigentlich stutzig machen und zu größerer Vorsicht in der Kombination hätte mahnen sollen. Stempell macht selbst darauf aufmerksam, daß „die Kernvermehrung bei den verschiedenen Sporen sehr viele Unregelmäßigkeiten zeigt". „Einmal kann die Größe der Teilprodukte sehr verschieden sein, ferner kommen die mannigfachsten Lagerungen der Kerne vor, und endlich sind die einzelnen Kernteilungsphasen keineswegs synchron mit bestimmten sonstigen Veränderungen des Sporeninhalts." „Sehr häufig liegen die Kerne nicht in der Hauptansammlung des Sporenprotoplasmas, sondern in dem dünnen Protoplasmaüberzug der großen Vakuole, so daß es bei gewissen Lagen der Spore so aussieht, als lägen sie im Innern der Vakuole, was in Wirklichkeit wohl niemals der Fall ist." Dieser „dünne Protoplasmaüberzug" ist nun, nach meiner Ansicht, in der reifen Spore überhaupt nicht vorhanden und ich kann auch in den Figuren Stempells keinen Beweis für seine wirkliche Existenz finden. Vor allem aber sind die Körner, die Stempell als frei in der großen Vakuole liegende Kerne betrachtet, gar keine Kerne, sondern nichts anderes als die oben schon besprochenen „metachromatischen Körner", wie ein Vergleich seiner, von ihm als Belege angeführten Figuren 69, 72, 73, 80—82, 84, 85, 88, 91—96 und ebenso seiner Figuren 121—129 mit meinen Figuren ohne weiteres zeigt. Die vier Kerne der reifen Spore schließlich, wie sie Stempells Figuren 97, 98, 99, 130 und 131 enthalten, sind nach meiner Auffassung nur bei der Behandlung mit Eisenhämatoxylin entstandene Extraktionsbilder (s. oben S. 409). Den wirklichen Kern der reifen Sporen dagegen hat Stempell überhaupt gar nicht gesehen; es ist höchstens möglich, daß in einigen Abbildungen unreifer Sporen der wirkliche Kern wiedergegeben ist.

Wie die Angaben Merciers zu deuten sind, vermag ich nicht mit Bestimmtheit zu sagen. Da die als Beleg dienenden Abbildungen (Fig. 13—16) nach seiner ausdrücklichen Angabe „halb-schematisch" sind, geben sie keinen objektiven Befund wieder, sondern enthalten schon subjektive Momente, die eine sichere Beurteilung unmöglich machen. Nur das läßt sich wohl sagen, daß die vier Kerne der reifen Spore (Fig. 16) wie bei Stempell durch die Eisenhämatoxylinfärbung entstandene Extraktionsbilder darstellen dürften.

Zwei- und dreikernige unreife Sporen oder Sporoblasten, wie sie Schröder von *Thelohania chaetogastris* abbildet, sind mir nie zu Gesicht gekommen. In den reifen Sporen zeichnet er vielfach nur einen Kern, dessen Lage mit meinen Beobachtungen übereinstimmt. Von dem fünfkernigen Stadium sagt Schröder selbst, daß er es „recht selten so deutlich gefunden habe, wie es auf Fig. 42 dargestellt ist; ohne die Arbeiten von Léger und Hesse, sowie die von Mercier zu kennen, hätte er wohl nicht gewagt, die Schalenkerne als solche zu bezeichnen. Überhaupt sei *Thelohania chaetogastris* für die Untersuchungen über Entstehung und Bau der Sporen wegen der geringen Größe recht ungeeignet." Ich glaube, daß angesichts dessen auch ein Teil dieser Angaben einer Nachprüfung bedürfen möchte.

Die neuesten Mitteilungen Stempells über *Nosema bombycis*[1]), die bis jetzt nur durch eine schematische Abbildung gestützt werden, lassen zurzeit eine eingehende Kritik noch nicht zu. Bemerkenswert ist, daß bei den reifen Sporen dieser Form, soweit sie innerhalb der Wirtszelle liegen, nur zwei Kerne vorhanden sein sollen, und daß die Vierkernigkeit, die der Abbildung nach wie bei *Nosema anomalum* auf Extraktion zu beruhen scheint, erst in der freigewordenen Spore zustande kommen soll.

Damit wird ein weiterer schwacher Punkt der Mehrkernigkeit der Microsporidiensporen berührt.

Nach den früheren Angaben Stempells (1904) sollen zwei von den vier Kernen der Spore Polkapselkerne, die beiden andern dagegen Kerne des Amöboidkeimes darstellen. Léger und Hesse (1907) sowie Mercier, denen sich Schröder anschließt, schreiben zwei Kerne der Schale, einen der Polkapsel und zwei dem Amöboidkeim zu. Es treten also nach Stempell schon bei der Bildung der Polkapsel zwei Kerne auf, nach den andern Autoren dagegen nur einer, während zwei bei der Bildung der Schalen beteiligt seien. Nach den neuesten Angaben Stempells aber enthält die reife, noch nicht entleerte Spore zwei Kerne, von denen nicht gesagt ist, ob sie mit der Bildung der Polkapsel oder der Schale etwas zu tun haben, und erst die aus der Wirtszelle frei gewordene Spore wird vierkernig. In diesem Falle hätte also die Mehrkernigkeit nicht die gleiche Bedeutung, wie bei den von Léger und Hesse, sowie Mercier und Schröder beschriebenen Formen, bei denen sie, ähnlich wie bei den Myxosporidien, mit der Entwicklung der Polkapseln und Schale in Zusammenhang stehen solle. Diese Widersprüche werden, ebenso wie die vor allem von Stempell beschriebenen Mannigfaltigkeiten und Unregelmäßigkeiten der Sporenentwicklung, durch die von mir gefundene Einkernigkeit der Sporen hinfällig. Da, wie ich zeigte, eine besondere Polkapsel nicht vorhanden ist und auch eine Zweiklappigkeit der Sporenhülle nicht als erwiesen gelten darf, so würden auch ein besonderer Polkapsel- und zwei Schalenkerne keinen Sinn haben.

Auf eine genauere Besprechung der früheren Entwicklungsstadien — abgesehen von der Frage der „vegetativen Kerne“, von denen weiter unten noch eingehend die Rede sein wird — muß ich, da mein Material nicht ausreichend erscheint, verzichten. Nur einen Punkt will ich kurz berühren, nämlich die Entstehung der Sporoblasten aus dem Sporonten: Nach meinem Material hat es den Anschein, daß die Sporoblasten durch Zerfall des vielkernig gewordenen Sporonten entstehen. In der Regel wird, im Gegensatz hierzu, angegeben, daß die Sporen durch sukzessive Teilungen der Sporonten gebildet werden; z. B. von Stempell für *Thelohania mülleri* (1902), *Nosema anomalum* (1904), von Hesse (1904) für *Thelohania legeri*, von Mercier für *Thelohania giardi* (1908), von Schröder für *Thelohania chaetogastris* (1909). Bei *Nosema anomalum* soll nach Stempell außerdem „der Fall nicht allzu selten sein, daß überhaupt nur eine einzige Spore aus dem Sporonten hervorgeht“ (1904, S. 12); nach Pérez (1905, S. 147) ist dies bei *Thelohania maenadis* sogar die Regel, und auch bei *Nosema bombycis*

---

[1]) Zusatz bei der Korrektur: Die kürzlich im Archiv für Protistenkunde erschienene ausführliche Arbeit Stempells konnte hier nicht mehr berücksichtigt werden; ich hoffe an anderer Stelle auf sie zurückkommen zu können.

soll nach Mesnil (mitgeteilt bei Pérez, 1905, S. 147) und Stempell (1909, S. 316) jede Spore aus einem einzelnen „Meronten" entstehen. Es ist nun sehr bemerkenswert, daß Stempell für *Nosema anomalum* weiterhin noch von Formen berichtet, „welche zahlreiche Kerne, aber noch keinen deutlichen Zerfall ihres Protoplasmas zeigen", sie seien „vielleicht aus den Mutterindividuen herausgefallene Sporonten, bei denen noch keine Protoplasmateilung stattgefunden habe". Nicht nur dieser Beschreibung, sondern auch den Abbildungen nach (Fig. 115, 116) ist es mir nicht unwahrscheinlich, daß Stempell hiermit die gleichen Stadien gesehen hat, wie ich selbst, und die auch mir den Eindruck machen, daß die Sporen durch simultanen Zerfall des vielkernig gewordenen Sporonten entstehen. Daß nun außerdem die Bildung der Sporen durch sukzessive Zweiteilung soll erfolgen können und daß auch noch Sporonten sich direkt in Sporen umwandeln — wie es Stempell für *Nosema anomalum* angab —, erscheint mir außerordentlich unwahrscheinlich und ich bin der Ansicht, daß ebenso wie bei den Kernverhältnissen der Sporen die große Mannigfaltigkeit und die Unregelmäßigkeiten der vermeintlichen Entwickelungsvorgänge zu größter Vorsicht in der Kombination mahnen müssen. Daß das gleiche Entwicklungsstadium auf drei verschiedenen Wegen sollte erreicht werden können, ist doch wohl nicht anzunehmen. Jedenfalls kann diese Frage — mindestens für *Nosema anomalum* — als nicht gelöst betrachtet werden.

Über die Bildung der Sporonten der Gattung *Plistophora* liegen bis jetzt keine ausreichenden Angaben vor; die Mehrzahl der beschriebenen Arten wurde in Form von kugeligen Pansporoblasten gefunden, die entweder reife Sporen oder Sporoblasten enthielten. Nur für *Plistophora periplanetae* beschreibt Perrin (1906) frühere Stadien, die im ganzen einfach durch Bildung einer Hülle zu Pansporoblasten werden. Doflein gibt als Merkmal seiner Familie der Plistophoridae an, daß der „Körper bei der Sporulation vollständig in Pansporoblasten zerfalle" (1901, S. 205); doch weiß ich nicht, worauf sich diese Angabe stützt. Soviel mir bekannt, sind überall nur kugelige Pansporoblasten gefunden worden, für deren Entstehung durch Zerfall eines größeren Protoplasmakörpers keinerlei Beweise vorliegen. Die Tatsache, daß in zahlreichen Fällen die einzelnen Pansporoblasten isoliert in den befallenen Geweben liegen, wie schon Thélohan für *Plistophora typicalis* Gurley beschrieb (1895, S. 218, 245), wie die eben erwähnten Mitteilungen Perrins über *Plistophora periplanetae* machen dies nicht wahrscheinlich.

Meine eigenen Beobachtungen sprechen ebenfalls durchaus dafür, daß der Pansporoblast bezw. der junge Sporont das ganze „Individuum" darstellt und nicht nur direkt aus entsprechenden Stadien der Schizogonie — deren Vorhandensein wohl vermutet werden kann — hervorgeht, sondern auch unmittelbar und vollständig zur Bildung der Sporoblasten aufgebraucht wird.

Beziehungen der Parasiten zum Wirtsgewebe.

In schwach infizierten Hodenkanälchen fand ich die von einer Hülle umschlossenen Pansporoblasten wie die als jüngere Sporonten gedeuteten Stadien innerhalb des kaum verdickten Epithels, isoliert und in geringerer Anzahl; daß sie durch Zerfall eines größeren Protoplasmakörpers entstanden sein könnten, ist wohl nach Be-

funden, wie sie in Fig. 39 dargestellt sind, sehr unwahrscheinlich. Obwohl die Grenzen der einzelnen Zellen nicht erkennbar sind, darf man wohl mit Sicherheit behaupten, daß die Pansporoblasten intracellulär liegen, wie es ja auch z. B. bei den intramuskulär parasitierenden Pansporoblasten von *Plistophora typicalis* nach Thélohan der Fall ist. Von besonderem Interesse sind nun die großen Kerne, die unmittelbar neben den Pansporoblasten liegen (Fig. 39 K_1 K_2). Ein Vergleich mit den übrigen Kernen des Epithels zeigt ohne weiteres, daß die Struktur der großen Kerne mit der der normalen Kerne des Epithels grundsätzlich übereinstimmt. Sie sind nur ganz bedeutend voluminöser; nicht nur das Kerngerüst, sondern auch anscheinend das auf diesem verteilte Chromatin und die Nucleolen zeigen eine Vermehrung der Zahl wie der Gesamtmasse; ebenso ist natürlich der Kernsaft in sehr erheblichem Maße vermehrt. Gleichzeitig ist die Struktur im allgemeinen etwas lockerer. Da sich die großen Kerne also im wesentlichen nur durch die Masse und Größe von den normalen Kernen unterscheiden, so kann wohl kein Zweifel bestehen, daß es sich um veränderte Epithelkerne handelt. Nicht selten beobachtet man, wie ein vergrößerter Kern einem Pansporoblasten direkt anliegt und ihn teilweise umfaßt (Fig. 39, K_1). Natürlich fallen solche den Pansporoblasten anliegenden Kerne mit diesen nicht immer in die gleiche Schnittebene. Der mit * bezeichnete Pansporoblast zeigt z. B. in dem in Fig. 39 abgebildeten Schnitt keinen ihm anliegenden Kern. In dem nächstfolgenden Schnitte der Serie findet sich dagegen ein großer Kern, der dem tangential getroffenen Rest des Pansporoblasten genau so anliegt, wie es bei dem mit K_1 bezeichneten Kern der Fall ist. Derartige Lagebeziehungen von Pansporoblasten und großen Kernen machen es wahrscheinlich, daß die letzteren die stark vergrößerten Kerne der ursprünglichen Wirtszelle des Pansporoblasten darstellen. Da jedoch auch die ihnen zunächst liegenden Epithelkerne eine Vergrößerung und eine gewisse Auflockerung der Struktur zeigen, so muß man wohl annehmen, daß die Microsporidien nicht nur auf die Kerne der Wirtszellen, sondern auch auf die der zunächst gelegenen nicht infizierten Zellen einen Reiz ausüben, der eine Hypertrophie zur Folge hat. In dem mir vorliegenden Material sind die schwach infizierten Hodenkanälchen nicht sehr häufig; es bedurfte langen Durchsuchens vieler Schnitte, um sie aufzufinden; es erwies sich ferner als notwendig, die Hodenkanälchen in genau orientierter Richtung, sowohl quer wie der Länge nach, durchschnitten zu erhalten, da es nur so möglich ist, die durch den Parasitismus der Microsporidien bedingten Veränderungen der Gewebe zu erkennen und als solche zu beurteilen. Nur bei gut getroffenen Querschnitten von Kanälchen, deren Lumen und äußerer Umriß konzentrische Konturen zeigen (Fig. 39), kann man mit Sicherheit sagen, daß es sich um eine schwache Infektion handelt, die nur geringe Veränderungen bedingt hat. Wenn man dann ferner Kanälchen, wie sie die Fig. 40—43 darstellen, mitten unter rein quergeschnittenen Kanälchen antrifft, so kann man mit Bestimmtheit behaupten, daß das bedeutend veränderte Aussehen der ersteren durch den Parasitismus der Microsporidien bedingt wird. Daß dies tatsächlich der Fall ist, beweisen überdies gut getroffene Längsschnitte durch die Hodenkanälchen, besonders durch ihre blind geschlossenen Teile, die unmittelbar unter der Oberfläche des Hodens liegen und in radiärer Rich-

tung nach innen verlaufen. An solchen Längsschnitten (Fig. 32—36) sieht man nicht selten den Übergang des durch die Parasiten veränderten Teils in das normale Gewebe und kann damit den Grad und die Art der Veränderung aufs beste beurteilen.

Die Veränderung stark infizierter Hodenkanälchen besteht nun vor allem in einer sehr erheblichen Vergrößerung ihres Durchmessers, die natürlich dem Grade der Infektion proportional ist.

Bis zu welchem Maße diese gehen kann, zeigt sehr schön Fig. 36. Man sieht hier zwei stark infizierte Kanälchen, die sich gegen das Innere des Hodens zu (in der Figur oben) miteinander vereinigen. Aus dem Vergleich mit diesem gemeinsamen nicht veränderten Abschnitt und mit andern, daneben verlaufenden nicht infizierten Kanälchen erhellt, daß der Durchmesser auf mindestens das Achtfache vergrößert ist. Die benachbarten, nicht infizierten Kanälchen sind natürlich durch diese übermäßige Vergrößerung zur Seite gedrängt. Die in der Mitte der Figur bei * bemerkbare dichtere Anhäufung von Kernen kommt, wie leicht verständlich ist, dadurch zustande, daß der auch noch infizierte und stark erweiterte Abschnitt, in dem sich die beiden infizierten Kanälchen zunächst vereinigen, Faltungen der Oberfläche besitzt (wie sie z. B. in der gleichen Figur rechts im Längsschnitt zu sehen sind), so daß die Oberfläche teilweise tangential getroffen erscheint.

Einen etwas geringeren Grad der Infektion und dementsprechend geringere Vergrößerung des Durchmessers zeigen die in Fig. 32—35 abgebildeten Längsschnitte von Kanälchen. In dem in Fig. 32 dargestellten Falle ist die Infektion auf den Abschnitt, in dem sich zwei Kanälchen vereinigen, beschränkt, während die blinden Enden keine Parasiten enthalten.

In allen diesen Fällen ist das Lumen der Kanälchen nicht mehr zu erkennen und vollständig durch die Parasiten ausgefüllt, wie auch aus den meisten entsprechenden Querschnitten (Fig. 40—43) hervorgeht. Nur in Fig. 40 scheint ein Spalt (l) anzudeuten, daß die Infektion des Epithels auf einen Teil desselben beschränkt blieb, so daß die Vergrößerung des Durchmessers und die Verdrängung des Lumens (l) allein durch die übrige mächtig verdickte und mit zahlreichen Parasiten erfüllte Partie bedingt wird.

Die Parasiten befinden sich größtenteils im Stadium der bläschenförmigen Pansporoblasten, die teils kugelige Sporoblasten, teils Sporen in verschiedenen Stadien der Reife enthalten. Die Pansporoblasten sind von einer deutlichen Hülle begrenzt. Außer ihnen werden noch einige andere Stadien angetroffen, die wahrscheinlich als jüngere Sporonten aufgefaßt werden müssen (s. oben S. 413).

Betrachtet man nicht zu stark infizierte Kanälchen mit starker Vergrößerung (Fig. 40—43) so zeigt sich, daß alle Parasiten in einer feinkörnigen Masse liegen, die in das Protoplasma des unveränderten Epithels ohne Grenze übergeht und nur durch eine stellenweise etwas vakuoläre Beschaffenheit sich von ihm unterscheidet. In dieser Masse, zwischen und neben den Pansporoblasten, liegen nun zahlreiche größere, zum Teil sogar ganz ungeheuerlich große sehr stark gefärbte Kerne (k).

Bei Anwendung schwächerer Vergrößerungen und etwas dickerer Schnittführung verleihen diese Kerne den infizierten Kanälchen ein höchst merkwürdiges Aussehen.

Sie erscheinen als dunkle, oft vielfach verzweigte Flecken, die sich zwischen den Pansporoblasten hinziehen und deutlich eine Beeinflussung durch deren Form und Zusammenlagerung erkennen lassen. Man hat zunächst den Eindruck, als ob es sich um eine Art Gerinnsel handelte, das die zwischen den einzelnen Pansporoblasten vorhandenen Lückenräume erfüllte (Fig. 32—36, k) und je nach deren Form bald etwas strangartige, bald dickere Massen bildete. Aber die Untersuchung mit stärkeren Vergrößerungen zeigt, daß diese Gebilde tatsächlich Kerne sind, und die sorgfältige Durchmusterung zahlreicher verschieden stark infizierter Hodenkanälchen beweist, daß sie mit den schon oben beschriebenen vergrößerten Epithelkernen schwächer infizierter Kanälchen durch zahlreiche Übergänge verbunden sind. Es kann daher kein Zweifel bestehen, nicht nur, daß es sich überhaupt um Kerne handelt, sondern daß sie auch durch eine noch weiter fortgeschrittene Hypertrophie der vergrößerten Kerne, wie sie oben aus schwächer infizierten Kanälchen beschrieben wurden, ihr eigentümliches Aussehen gewonnen haben.

Fig. 40 zeigt von einigen, gegenüber der normalen Beschaffenheit weniger vergrößerten Kernen Übergänge zu solchen, welche die Größe eines Pansporoblasten nicht nur erreicht, sondern sogar übertroffen haben (K_1, K_4). Die Struktur auch dieser Kerne stimmt grundsätzlich mit der der normalen Gewebekerne überein; sie ist gewissermaßen nur noch vergröbert und noch lockerer geworden, ohne daß jedoch die Vergrößerung des Volumens nur auf eine Vermehrung des Kernsaftes zurückgeführt werden könnte. Bei der bedeutenden Vergrößerung haben die Kerne indessen anscheinend durch die Pansporoblasten Widerstand gefunden; ihre äußeren Umrisse werden, wie sich vielfach zeigt, durch die benachbarten, kugeligen Pansporoblasten beeinflußt. Sie sind mehr oder weniger nach innen eingebuchtet und werden auf diese Weise zum Teil zu ziemlich stark abgeflachten, tief ausgehöhlten Gebilden, wie schon schwächere Vergrößerungen lehren (Fig. 35). Die Pansporoblasten können bis zur Hälfte ihres Umfangs von ihnen umfaßt werden (Fig. 32, 34), sodaß sie ihnen wie eine dunkel gefärbte Kappe aufsitzen. Stärkere Objektive zeigen indessen, daß die Form der vergrößerten Kerne nicht ausschließlich durch die Pansporoblasten beeinflußt wird. Soweit die Vergrößerung noch nicht das Maximum erreicht zu haben scheint, hat man allerdings den Eindruck, als ob stark geblähte Kerne hauptsächlich durch die Umgebung, vor allem die anliegenden Pansporoblasten beeinflußt wurden (Fig. 40 K_2, K_3). Gerade die größten Kerne aber besitzen auch an Stellen, wo sie nicht an Pansporoblasten grenzen, ganz unregelmäßige, bisweilen höckerige Oberflächenkonturen (Fig. 41 K_1; 42, K_1 K_2; 43 K_1, K_4), die zum Teil zu höchst bizarren Formen führen können. Die Struktur derartiger Kerne ist etwas verändert. Das Kerngerüst erscheint etwas schwächer und auf, wie neben ihm sind zahlreiche stark färbbare feine Körnchen und Krümchen vorhanden, die wohl durch Zerfall des Chromatins entstanden sind (vgl. besonders Fig. 41 K_1, 42, 43). Bei schwächerer Vergrößerung erscheinen daher besonders solche Kerne als die dunkeln, gerinnselartigen Körper. Man muß wohl annehmen, daß die stark vergrößerten Kerne, wenn ein gewisses Maximum erreicht ist, ihre Turgeszenz verlieren, und daß hierdurch die unregelmäßige

und oft etwas höckerige Beschaffenheit der Oberfläche zustande kommt. Das Blässerwerden des Kerngerüsts und der Zerfall des Chromatins deuten aber darauf hin, daß gleichzeitig eine Zerstörung der Kernstruktur und eine Degeneration des ganzen Kerns eintritt. Daß eine solche tatsächlich erfolgt, scheint mir aus dem Befunde der durch die Microsporidien-Infektion zerstörten Partien des Hodens hervorzugehen, in denen zahlreiche stark gefärbte, strukturlose Kugeln vorhanden sind, die wohl die Reste des Chromatins zerstörter Kerne darstellen.

Durch die starke Hypertrophie werden die Kerne nun vielfach so ausgedehnt, daß sie mit benachbarten Kernen in unmittelbare Berührung treten (Fig. 41—43). Die Aneinanderlagerung kann dabei so dicht sein, daß Kernmassen zustande kommen, die bei schwächerer Vergrößerung als ein einheitlicher, sich weithin ausbreitender Kern erscheinen, bei denen aber unter starker Vergrößerung sich doch noch Grenzen feststellen lassen (Fig. 41, 42). Im einzelnen ist es allerdings oft schwer festzustellen, ob man es mit einem oder mit mehreren Kernen zu tun hat; so vermag ich z. B. nicht mit Bestimmtheit anzugeben, ob das komplizierte und so merkwürdig gestaltete Gebilde in Fig. 43 K_1 ein einheitlicher Kern ist, oder ob an seinem Zustandekommen mehrere dicht aneinander gepreßte Kerne beteiligt sind, wie es in Fig. 41 und 42 der Fall ist. Jedenfalls sind die großen zusammenhängenden Kernzüge, wie sie in den Fig. 32—34 bei schwächerer Vergrößerung dargestellt sind, wenigstens zum Teil derartige dicht aneinandergepreßte Kerne. Ein Blick auf die Figuren zeigt, daß die Kerne auch so nach Größe und Form noch merkwürdig genug sind.

Im Verhältnis zur Hypertrophie der Kerne ist die Vermehrung des Protoplasmas der Hodenepithelzellen jedenfalls gering, wenn man von einer solchen überhaupt sprechen kann. Es scheint, als ob es nur stellenweise wasserreicher wird, wofür die partielle Vakuolisierung sprechen dürfte.

Der allmähliche Übergang von wenig vergrößerten Kernen in schwach infizierten fast normalen Hodenkanälchen zu den großen bizarren Kernformen in den stark durch Parasiten aufgetriebenen, fast kugelig angeschwollenen Kanälchen beweist mit voller Sicherheit, daß es sich, wie schon oben betont, um hypertrophisch veränderte Gewebekerne handelt. Dieser Beweis ist deshalb von Wichtigkeit, weil ähnliche Kernformen als in den Entwicklungskreis von Microsporidien gehörig beschrieben worden sind.

Schon Korotneff fand, daß das in den Spermatoblasten der Bryozoe *Alcyonella fungosa* parasitierende *Nosema* (*Myxosporidium*) *bryozoides* Korotneff eine Vergrößerung der Kerne der Wirtszellen bewirkt. Und wenn auch seine Angabe, daß das Plasma der Wirtszelle und der Parasiten sich mische, wohl kaum zutreffen, sondern wohl anders zu erklären sein dürfte, so ist an dem Vorkommen großer Kerne, welche die ursprüngliche Struktur nur in vergrößertem Maße zeigen, nicht zu zweifeln.

Eine ganz andere Deutung gibt nun diesen großen Kernen Stempell, der bei den von *Nosema anomalum* infizierten Fischen ebenfalls große Kerne antraf. Daß diese den von mir beobachteten großen Kernen entsprechen, wird durch die Übereinstimmung in der Struktur bewiesen, wie aus der Beschreibung und den Abbildungen Stempells (1904, S. 7) hervorgeht. Die färbbaren Bestandteile der durch „größere Auflockerung"

ausgezeichneten Kerne „sind teils an der Kernmembran, teils an einem im Innern der Kerne ausgespannten grobmaschigen Netzwerk von Fäden angeordnet, teils bilden sie auch im Zentrum der Kerne eine größere kompakte Masse.“

Stempell rechnete diese großen Kerne, die er als „vegetative Kerne“ bezeichnet, zum Microsporidienkörper und gibt an, daß aus ihnen durch „Teilung, resp. Knospung“ die Kerne der Sporonten entstehen sollen. Sie besäßen eine starke Neigung, sich in die Länge zu ziehen und sich nach dem Typus der direkten Kernteilung zu teilen“; in sehr vielen Fällen bleiben die Teilungen der großen Kerne unvollständig und es entstehen lange, oft rosenkranzförmige und verzweigte Gebilde (1904, S. 8).

Ein Beweis für diese Teilungen ist nun meines Erachtens in keiner Hinsicht erbracht. Denn die langgestreckte Form mancher Kerne ist doch nicht für sich allein als solcher anzusehen, zumal Formen, die den sonst bekannten Durchschnürungsstadien von direkter Kernteilung gleichen, nicht abgebildet werden. Es kommt hinzu, daß die Kerne der von Stempell als junge Sporonten angesehenen Körper sich nach seinen eigenen Angaben „sehr schwach färben“ und „niemals die massige, vielleicht als Caryosom aufzufassende Anhäufung von chromatischer Substanz erkennen lassen, welche für die vegetativen Kerne so charakteristisch ist“ (S. 10). Trotz der hierin gegebenen Schwierigkeiten ist es nach Stempell kaum zu bezweifeln, daß die Sporontenkerne direkte Abkömmlinge der vegetativen Kerne sind.“ Er beseitigt die Schwierigkeiten einfach durch die Vermutung, daß „bei der Umwandlung der letzteren in die ersteren einzelne spezifische Kernbestandteile ausgestoßen oder aufgelöst werden, oder auch in den vegetativen Kernen zurückbleiben“, und betrachtet die Erscheinung, daß die die Sporonten enthaltenden Hohlräume oft als direkte Fortsetzungen der vegetativen Kerne erscheinen sollen, als Beweis hierfür! Abgesehen davon, daß mir die Sporontennatur der in den Hohlräumen enthaltenen Körper durchaus nicht sichergestellt zu sein scheint, muß die Berechtigung eines derartigen Schlusses mit aller Entschiedenheit bestritten werden. Daraus, daß ein langgestreckter Hohlraum an einen stark gefärbten, ganz charakteristisch strukturierten Kern stößt, folgt doch nicht, daß die in dem Hohlraume enthaltenen, mit einem ganz blaß färbbaren Kern versehenen Gebilde von ersterem abstammen und daß die stark färbbare Substanz ausgestoßen wurde. Daraus folgt meines Erachtens nur, daß diese Dinge nichts miteinander zu tun haben, um so weniger, als auch noch andere Schwierigkeiten für jene Deutung bestehen.

Stempell sagt selbst, daß „die Herkunft des Sporontenplasmas dabei schwer zu ermitteln“ sei; „doch sei bei dem jetzigen Stand der Protozoenforschung die Auffassung, daß dieses Protoplasma ganz oder teilweise aus Bestandteilen der vegetativen „„Kerne““ aufgebaut werde, nicht mehr so ohne weiteres von der Hand zu weisen“. Er braucht also, um die Zugehörigkeit der großen Kerne zum Microsporidienkörper zu beweisen, oder überhaupt nur verständlich zu machen, eine ganze Anzahl von Hypothesen, darunter die, daß das Protoplasma eines Sporonten ganz oder teilweise aus einem Kerne hervorgehe.

Sind demnach die Gründe Stempells an sich schon ganz unzureichend, um seine

Auffassung der „vegetativen Kerne“ zu stützen, so wird diese außerdem durch den oben erbrachten Nachweis, daß die großen Kerne tatsächlich durch die Hypertrophie von Kernen des Wirtsgewebes zustandekommen, widerlegt.

Auch Schröder beobachtete bei dem mit *Thelohania chaetogastris* infizierten *Chaetogaster diaphanus* vergrößerte und gelappte Kerne, deren Zugehörigkeit zum Wirtsgewebe durch das Vorhandensein von Übergängen sichergestellt ist; er kam daher ebenfalls zu der „festen Überzeugung“, daß es sich auch bei *Nosema anomalum* — und ebenso bei *Nosema bryozoides* — „um die Kerne der Wirtszellen handele“ (1909, S. 130). In den mit *Glugea lophii* infizierten Ganglienzellen von *Lophius* hatte ferner schon Mrázek vergrößerte Kerne gefunden, „die endlich fast nur einen mehrlappigen gewundenen Hohlraum darstellen, in welchem sich nur spärliche kleine Chromatinbrocken zeigen und dessen einzelne Lappen auf Querschnitten sehr oft den Eindruck einer Kernfragmentation machen“ (1899, S. 3). Daran, daß diese Kerne nicht zur Wirtszelle gehören könnten, hat Mrázek — mit Recht — nicht gezweifelt.

Bei *Myxocystis ciliata* hat schließlich Mrázek (1897), bei *Myxocystis mrázeki* Hesse (1905) große Kerne gefunden, für deren Bedeutung Hesse sich allerdings Stempells Auffassung, daß es sich um „vegetative Kerne“ der Parasiten handele, anschloß. Ich kann aber nur der Meinung Schröders beipflichten, daß es noch genauerer Untersuchungen bedarf, ob dies tatsächlich der Fall ist, und bin der festen Überzeugung, daß sich hier, wie in den von Schröder und von mir beobachteten Fällen die Zugehörigkeit der großen Kerne zum Wirtsgewebe wird erweisen lassen[1]).

Mit dem Nachweis, daß die „vegetativen Kerne“ dem Wirtsgewebe entstammen, werden auch alle Angaben Stempells über die Entstehung der Sporonten aus ihnen und ebenso alle seine theoretischen Folgerungen, soweit sie sich auf die „vegetativen Kerne“ beziehen, gegenstandlos, vor allem der Vergleich derselben mit den Macronulei der Infusorien — sowie die Spekulationen über ihre Bedeutung für den

---

[1]) Die vorliegenden Untersuchungen über *Plistophora longifilis* hatte ich zuerst gemeinsam mit Herrn Dr. O. Schröder noch in Heidelberg begonnen. Schon damals hatten wir die Überzeugung gewonnen, daß die Auffassung Stempells von den vegetativen Kernen nicht zutreffe. Den Beweis hierfür konnte ich für *Plistophora longifilis* erst nach meiner Übersiedelung hierher erbringen, da ich die schwächer infizierten Hodenkanälchen erst im Laufe der weiteren Untersuchung auffand.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich, obwohl mir eigene Beobachtungen nicht zu Gebote stehen, mit Bezug auf die eigenartigen spindelförmigen und längsgestreiften Einschlüsse, die Schröder (1909, S. 130) in infizierten oder infiziert gewesenen Bindegewebszellen von *Chaetogaster* antraf, auf eine Beobachtung von Mrázek hinweisen. Mrázek bildet nämlich in einer mit *Glugea* infizierten Ganglienzelle einen „eigentümlichen Körper“ ab, „der bei der Doppelfärbung stets sehr scharf hervortrat“ (1899, Fig. 11; und Erklärung hierzu S. 8). Dieser Körper erinnert durch die Längsstreifung wie durch die spiralige Umbiegung desselben an manche Figuren Schröders (1909, Fig. 53, 55, 56) und legt die Vermutung nahe, ob diese Dinge nicht auch etwas mit der Microsporidien-Infektion zu tun haben möchten. Es ist immerhin sehr bemerkenswert, daß bei so weit entfernten Organismen, wie es *Chaetogaster* und *Lophius* sind, gerade bei Microsporidien-Infektion Zelleinschlüsse auftreten, die — soweit die vorliegenden Abbildungen ein Urteil erlauben — doch zweifellos eine gewisse Übereinstimmung erkennen lassen. Jedenfalls ist zu empfehlen, bei Untersuchungen über Microsporidien derartige Vorkommnisse nicht unbeachtet zu lassen!

Stoffwechsel, für die angebliche Auflösung der „Cyste“ und für die „Reorganisation der vegetativen Kernsubstanz“ nach Auflösung der Cyste[1]).

Welcher Art und Herkunft die von Stempell beobachteten großen Kerne sind, welchem Gewebe sie angehören, läßt sich aus seinen Angaben und Abbildungen leider nicht ermitteln, da, wie nur zu häufig in derartigen Fällen, die Beziehungen zum Wirtsgewebe nicht in genügender Weise dargestellt sind.

In sehr stark infizierten, mit Pansporoblasten direkt vollgepfropften Hodenkanälchen (Fig. 33—36) ist von dem ursprünglichen Hodenepithel nichts mehr zu erkennen und nur die äußere bindegewebige Umhüllung gibt noch eine Andeutung des Bezirkes der einzelnen Kanälchen.

Ich fand nun außerdem an vielen Stellen des Hodens große Parasitenanhäufungen, die zahllose Sporen einschließen (Fig. 1 bei Ziffer 3, 4, 5).

Diese Ansammlungen werden durch die dichte Aneinanderlagerung mehrerer stark infizierter Kanälchen gebildet. Man kann sich ja leicht vorstellen, daß die dünnen bindegewebigen Scheidewände, wie sie z. B. in Fig. 36 zwischen den drei im Schnitte getroffenen Kanälchen noch bestehen, resorbiert werden und verschwinden, wodurch dann ein großer Haufen von Parasiten gebildet wird. Tatsächlich findet man diese Haufen auch öfter von ganz schmalen bindegewebigen Zügen durchsetzt.

In der Umgebung solcher Massen kann das Hodengewebe weithin zerstört sein (Fig. 1, bei 5); ja ich traf Partien des Hodens, in denen das Epithel vollständig verschwunden und die einzelnen Kanälchen nur noch durch hellere Lückenräume angedeutet waren (Fig. 1, bei 6 u. 7). Mitunter fanden sich in den verödeten Partien Parasitenmassen, die von einer Bindegewebscyste umgeben waren. Alle diese Erscheinungen der späteren Degeneration und völligen Verödung sind von pathologischen Veränderungen im Bindegewebe begleitet, auf deren Schilderung ich hier nicht näher eingehen will; sie würden ein besonderes Studium erfordern (Fig. 44).

Sowohl bei den großen Ansammlungen von Parasiten, wie in den vereinzelt in degenerierten Hodenpartien liegenden waren die Sporen meistens noch deutlich von einer Pansporoblastenmembran umgeben; es fanden sich aber auch Fälle, und zwar in der Regel dann, wenn das Bindegewebe des Hodens eine geschichtete Cyste gebildet hatte, in denen Pansporoblastenhüllen nur noch vereinzelt oder garnicht mehr nachzuweisen waren. Bei solchen Sporenmassen könnte leicht der Verdacht entstehen, daß man es nicht mit *Plistophora*, sondern mit *Nosema* zu tun habe; da man indessen gelegentlich noch eine oder die andere Sporoblastenhülle antrifft, ist es nicht zutreffend.

---

[1]) Absichtlich wurde hier nur auf jene Punkte von Stempells Untersuchungen genauer eingegangen, über die mir eigene Erfahrungen zu Gebote stehen; ich kann aber nicht verschweigen, daß mir auch andere Angaben sehr zweifelhaft erscheinen. Dies gilt besonders für die „sekundären Protoplasmakörper“, deren Leukocytennatur Stempell schon selbst in Erwägung zieht (S. 23 ff.). Ich glaube, daß Stempell nur ganz alte Parasitenmassen vor sich hatte und daß die von ihm als junge Stadien gedeuteten Gebilde zum Teil wenigstens dem Wirtsgewebe angehören.

Dagegen scheinen mir solche Vorkommnisse die Vermutung nahezulegen, daß das von Stempell untersuchte *Nosema anomalum* möglicherweise zur Gattung *Plistophora* zu stellen sein könnte. Stempell beschreibt selbst das gelegentliche Vorkommen von „großen, zahlreiche Sporen enthaltenden Protoplasmakörpern", bei denen sich „eine Abrundung und schwache Anzeichen einer Hüllbildung geltend machen" (1904, S. 24) und seine Abbildungen (Fig. 53—55) sprechen in hohem Maße dafür, daß er hierbei tatsächlich mit einer Hülle versehene Pansporoblasten vor sich gehabt hat. Da er nun überwiegend Sporenmassen von großer Ausdehnung, „Cysten" bis zu 3 mm Durchmesser untersuchte, so halte ich es für nicht ausgeschlossen, daß es sich bei diesen um große Sporenansammlungen handelte, die durch Verschmelzung kleinerer Haufen von Pansporoblasten zustande kamen, deren Hüllen verschwunden waren, in ähnlicher Weise, wie dies bei meinem Material mitunter der Fall war. Es wäre leicht denkbar, daß die im Hoden zunächst an die einzelnen Kanälchen gebundenen Parasitenansammlungen ihre ursprüngliche Anordnung längere Zeit hindurch und deutlicher erkennen lassen, als dies in anderen Organen der Fall ist, wie z. B. im Unterhautbindegewebe, am Ovarium, am Peritoneum und am Darmkanal, von wo das von Stempell untersuchte Material stammte. Nach dieser Auffassung würden dann die „Cysten" der Stempellschen *Nosema*-Fälle auch nicht dem ursprünglichen Parasitenkörper angehören. Ein abschließendes Urteil über diese Vermutung läßt sich allerdings ohne eigene Untersuchung des Falles nicht bilden, um so weniger, als die Abbildungen Stempells nirgends die Beziehungen der Parasiten zum umgebenden Wirtsgewebe klar wiedergeben. Nur das möchte ich betonen, daß Stempell für die „Eigencyste" seines *Nosema anomalum* von recht „mannigfachen Mißbildungen und anormalen Ablagerungsweisen der Cystensubstanz" berichtet (1904, S. 57; 18). Selbst „Tochtercysten" innerhalb der großen Cysten sollen vorkommen und an größeren Cysten könne die Cystensubstanz aufgelöst werden; in einem Falle fehle die Eigencyste sogar ganz und nur „bröcklige Massen stark färbbarer Substanz" seien noch als Reste derselben erhalten.

Stempell schließt aus diesen Vorkommnissen, daß die Eigencyste aufgelöst werden könne, und glaubt, daß die Auflösung eine Folge „der vollkommenen Stockung des Stoffwechsels" sei, die durch die Auflösung der vegetativen Kerne herbeigeführt werde. Abgesehen davon, daß diese Ansicht durch den Nachweis der nichtparasitären Natur der vegetativen Kerne hinfällig ist, muß doch wohl auch hier die Mannigfaltigkeit und große Unregelmäßigkeit der tatsächlichen Befunde zu größter Vorsicht in der Deutung veranlassen. Die Natur der „Eigencyste" scheint mir jedenfalls nicht genügend festgestellt zu sein und es bedarf meines Erachtens erneuter Untersuchung, um zu entscheiden, ob man es nicht auch hierbei mit Teilen des Wirtsgewebes zu tun hat.

Die Hypertrophie der Kerne.

Von erheblichem allgemeinen Interesse ist, wie mir scheint, in den vorstehenden Untersuchungen der Nachweis der bedeutenden Hypertrophie, welche Zellkerne des Wirtstieres durch die Microsporidieninfektion erleiden.

Daß an Zellkernen durch Parasiten-Infektionen hypertrophische Veränderungen hervorgerufen werden können, ist schon wiederholt beobachtet worden, so z. B. von Schaudinn (1900, S. 274) bei den mit *Coccidium schubergi* infizierten Darmepithelzellen von *Lithobius*, wobei allerdings nur beim Beginn der Infektion eine Vergrößerung der Kerne auftritt; ferner von mir und Kunze bei den durch die Schizonten von *Orcheobius herpobdellae* befallenen Lymphocyten von *Herpobdella* (1906, S. 236; 1907, S. 19), von Laveran und Pettit (1908, S. 1257) bei mit Haemogregarinen infizierten Eidechsen und von Laveran und Salimbeni (1909, S. 132) bei dem ebenfalls durch Haemogregarinen infizierten *Tupinambis teguixin*. Auch bei Trichinose kommt es nicht nur zu einer Vermehrung, sondern auch zu einer Vergrößerung der Kerne (vgl. Stäubli 1909). Diesen Fällen schwächerer Vergrößerung der Zellkerne lassen sich, bei genauerem Durchsehen der Literatur, zweifellos noch manche andere anfügen[1]).

Von größerem Interesse jedoch, weil sie mehr an die durch Microsporidien bewirkte bedeutende Kernhypertrophie erinnern, ist die bei dem sog. Kohlkrebs oder der Kohlhernie durch *Plasmodiophora brassicae* bedingte Kernhypertrophie der Wirtszellen. Auch hier ist die Vergrößerung der Kerne eine ganz außerordentlich bedeutende und ein Vergleich der von Prowazek hiervon gegebenen Abbildungen (1905; Taf. VII, Fig. 1a und 2) mit meinen eigenen zeigt, daß die Veränderungen der Struktur, wie in meinem Falle, anscheinend nicht sehr bedeutend sind, und abgesehen von der Vermehrung der Nucleolarsubstanzen hauptsächlich in einer feinen Verteilung des Chromatins auf dem Kerngerüst bestehen.

Fast noch mehr erinnern aber die von mir beobachteten Kerne an Kernformen, wie sie in manchen Geschwülsten gefunden werden, vor allem an die „Riesenkerne" bei manchen Sarkomen. Auch hier kommen gelegentlich nicht nur stark vergrößerte „hyperchromatische," sondern auch unregelmäßig geformte und gelappte Kerne vor, die, soviel ich bis jetzt aus der Literatur und aus einigen eigenen Erfahrungen ersehen kann, mit den hypertrophischen Kernen aus den mit Microsporidien infizierten Barbenhoden mancherlei Ähnlichkeiten besitzen. Es bedarf aber jedenfalls noch genauerer Untersuchungen, um festzustellen, in welchen Punkten die beiden Arten hypertrophischer Kerne übereinstimmen und wie weit die Übereinstimmung geht. Ich muß mich zunächst darauf beschränken, nur die Tatsache zu verzeichnen.

Vor allem muß auch zurzeit davon abgesehen werden, hieraus Schlüsse auf die Ätiologie der Geschwülste zu ziehen. Wer an sich geneigt ist, den letzteren einen parasitären Ursprung zuzuschreiben, mag aus dem Vorkommen von Kernhypertrophie, die mit Bestimmtheit auf eine Infektion zurückzuführen ist, einen weiteren Ansporn erhalten, nach den Parasiten der Geschwülste zu suchen. Man darf aber andererseits nicht vergessen, daß nicht nur nicht alle Geschwülste hypertrophische Kerne enthalten, sondern daß auch, wo solche vorkommen, die Hypertrophie sich in der Regel nur auf einen Teil von ihnen erstreckt. Es ist ferner zu betonen, daß, wie R. Hertwig bei *Actinosphaerium* nachgewiesen hat, Kernhypertrophie auch die Folge gewisser äußerer

[1]) Vergl. z. B. Tischler (1904, S. 421).

Bedingungen sein kann, ohne daß eine Beteiligung von Parasiten in Frage kommt. Es ist daher auch möglich daran zu denken, daß sowohl bei Microsporidien-Infektionen wie bei Geschwülsten in den Geweben Bedingungen geschaffen werden, die denen, welche bei *Actinosphaerium* zur Kernhypertrophie führen, ähnlich sind. Damit ist aber nicht gesagt, daß diese Bedingungen in allen Fällen durch Parasitismus gegeben werden, so wenig dies in dem Falle von *Actinosphaerium* zutrifft. Immerhin ist, wie ich glaube, die Analogie der Kernhypertrophie bei Microsporidieninfektionen — bei denen sie anscheinend häufiger vorkommt — und bei Geschwülsten in hohem Maße beachtenswert, und es ist nicht ausgeschlossen, daß weitere Untersuchungen über die parasitär entstandene Kernhypertrophie auch für die Geschwulstlehre wichtige Anregungen und Aufklärungen bringen können, auch wenn dereinst das große Rätsel der Ätiologie der Geschwülste nicht durch die Theorie des parasitären Ursprungs gelöst werden sollte.

Berlin-Großlichterfelde, 16. August 1909.

Literatur.

1878. Brock, J., Beiträge zur Anatomie und Histologie der Geschlechtsorgane der Knochenfische. In: Morphol. Jahrb. Bd. IV.

1906. Cépède, C., Sur une Microsporidie nouvelle, *Plistophora macrospora*, parasite des Loches franches du Dauphiné. In: Compt. rend. Soc. Biol. 1906. T. I.

1898. Doflein, F., Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. In: Zool. Jahrb. Anat. Bd. 11.

1901. Derselbe, Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena.

1903. Doflein und S. v. Prowazek, Die pathogenen Protozoen. In: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, herausgegeben von W. Kolle und A. Wassermann.

1892. Henneguy, F. et Thélohan, P., Myxosporidies parasites des muscles chez quelques crustacés décapodes. In: Annales de Microgr. T. IV.

1904. Hertwig, R., Über physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium Eichhorni*. Nebst Bemerkungen zur Ätiologie der Geschwülste. In: Festschrift zum 70. Geburtstage von E. Haeckel. Jena.

1904. Hesse, E., *Thelohania legeri* n. sp., Microsporidie nouvelle parasite des larves d'*Anopheles maculipennis* Meig. In: Compt. rend. Soc. Biol. T. 57.

1904. Derselbe, Sur le développement de *Thelohania legeri*. Ebenda.

1905. Derselbe, Sur *Myxocystis Mrazeki* Hesse, Microsporidie parasite de *Limnodrilus hoffmeisteri* Clap. Ebenda. T. 58.

1906. Hofer, B., Handbuch der Fischkrankheiten. 2. Aufl. München.

1908. Keysselitz, G., Die Entwickelung von *Myxobolus pfeifferi* Th. II. Teil. In: Arch. Protistenk. Bd. 11.

1890. Korotneff, A., *Myxosporidium bryozoides*. In: Zeitschr. wiss. Zool. Bd. 53.

1907. Kunze, W., Über *Orcheobius herpobdellae* Schuberg et Kunze, ein Coccidium aus *Herpobdella atomaria* Car. (*Nephelis vulgaris* Moq.-Tand.). In: Arch. Protistenk. Bd. 10.

1908. Laveran, A. et Pettit, A., Contribution à l'étude de *Haemogregarina lacertae* Danil. et Chalachn. In: Compt. rend. Ac. Sc. Paris T. 147.

1909. Laveran, A. et Salimbeni, Sur une hémogrégarine de *Tupinambis teguixin* L. Ebenda T. 148.

1907. Leger et Hesse, Sur une nouvelle Myxosporidie parasite de la sardine. Ebenda. T. 144.

1903. Lutz, A. und Splendore, A., Über Pebrine und verwandte Microsporidien. Erste Mitteilung. In: Centralbl. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33.

1904. Dieselben. Nachtrag. Ebenda. Bd. 36.

1908. Dieselben. Zweite Mitteilung. Ebenda. Bd. 46.

1908. Mercier, L., Sur le développement et la structure des spores de *Thelohania giardi* Henneguy. In: Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. 146.

1903. Minchin, E. A., The Sporozoa. In: E. Ray Lankester. A Treatise on Zoology. Part. I. Second Fascicle.

1897. Mrázek, A., Über eine neue Sporozoenform aus *Limnodrilus*. In: Sitzber. k. böhm. Ges. Wiss. Math.-nat. Kl. Prag.

1900. Derselbe. Sporozoenstudien. II. *Glugea lophii* Dofl. Ebenda.

1905. Pérez, Ch., Sur une nouvelle Glugéidée parasite du *Carcinus maenas*. In: Compt. rend. Soc. Biol. T. 58.

1906. Perrin, W. S., Observations on the structure and life-history of *Plistophora periplanetae* Lutz et Splendore. In: Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 49.

1905. Prowazek, S., Über den Erreger der Kohlhernie *Plasmodiophora brassicae* Woronin und die Einschlüsse in den Carcinomzellen. In: Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Berlin. Band 22.

1907. Derselbe. Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung. Leipzig.

1900. Schaudinn, F., Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. In Zool. Jahrb. Anat. Bd. 13.

1909. Schröder, O., *Thelohania chaetogastris*, eine neue in *Chaetogaster diaphanus* Gruith. schmarotzende Microsporidienart. In: Arch. Protistenk. Bd. 14.

1906. Schuberg, A., und Kunze, W., Über eine Coccidienart aus dem Hoden von *Nephelis vulgaris (Herpobdella atomaria)*, *Orcheobius herpobdellae* nov. gen. nov. spec. In: Verhandl. Deutsch. Zool. Ges. (Marburg) 1906.

1909. Stäubli, Trichinosis. Wiesbaden.

1902. Stempell, W., Über *Thelohania mülleri*. In: Zool. Jahrb. Anat. Bd. 16.

1904. Derselbe. Über *Nosema anomalum* Monz. In: Arch. Protistenk. Bd. 4.

1909. Derselbe. Über die Entwicklung von *Nosema bombycis* Naegeli. In: Zool. Anz. Band 34.

1895. Thélohan, P., Recherches sur les Myxosporidies. In: Bull. scientif. France et Belg. T. XXVI.

1901. Vaney et Conte, Sur une nouvelle Microsporidie, *Plistophora mirandellae*, parasite de l'ovaire d'*Alburnus mirandella* Blanch. In: Comp. rend. Ac. Sc. Paris. Vol. 133.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Querschnitt durch einen Hoden. — Alk. Eisessig. Par. Weigerts Eisenhämatox. Säurefuchsin (1 : 500 in H_2O). Cdb. 10 μ. — Zeiß Obj. a_3. Oc. 1. Zeich.-App.

Fig. 2. Pansporoblast mit reifen großen Sporen. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 5 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 8. Z.-App.

Fig. 3. Pansporoblast mit reifen kleinen Sporen. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 3 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 12. Z.-App.

Fig. 4. Pansporablast mit heranreifenden Sporen. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 3 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 8. Z.-App.

Fig. 5. Pansporoblast mit Sporoblasten. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 3 μ. — Zeiß Aprochr. 2 mm. Comp. Oc. 8. Z.-App.

Fig. 6. Pansporoblast mit ungeteiltem Protoplasma und zahlreichen Kernen. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 3 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 7—11. Reife Sporen im optischen Längsschnitt. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 3 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 12—13. Reife Sporen im optischen Querschnitt. — Wie Fig. 7—11.

Fig. 14—15. Stark gefärbte reife Sporen im optischen Querschnitt. — Wie Fig. 7—11.

Fig. 16. Reife kleine Spore im optischen Querschnitt. — Wie Fig. 7—11.

Fig. 17—19. Reife große Sporen. — Alk. Eisessig. Par. Cdb. Heidenhains Eisenhämatox. schwach extrahiert. Cdb. 5 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 20. Reife Spore. — Alk. Eisessig. Par. Cdb. Heidenhains Eisenhämatox.; stärker differenziert. Cdb. 2 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 21—24. Heranreifende Sporen. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. 3 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 25. Sporoblast. — Wie Fig. 21—24.

Fig. 26. Heranreifende Spore. — Alk. Eisessig. Par. Heidenhains Eisenhämatox.; differenziert. Cdb. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 27—29. Sporen mit ausgeschnelltem Polfaden, nach Behandlung mit Ammoniak; aufgetrocknet. — Löfflers Methylenblau. Cdb. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 18. Z.-App.

Fig. 30—31. Sporen mit ausgeschnelltem Polfaden, nach Behandlung mit Ammoniak auf getrocknet. — Löfflers Methylenblau. Cdb. — Zeiß 8 mm. Comp. Oc. 4. Z.-App.

Fig. 32 [1]). Längsdurchschnittene Hodenkanälchen; Infektion an der Vereinigungsstelle; mit zahlreichen großen Kernen. — Zeiß. Alk. Eisessig. Par. Hämacalcium. Cbd. 10 μ.

Fig. 33—34. Blindes Ende infizierter Hodenkanälchen im Längsschnitt. — Wie Fig. 32.

Fig. 35. Infiziertes Hodenkanälchen mit Übergang in den normalen Teil; Längsschnitt. — Alk. Eisessig. Par. Weigerts Eisenhämatoxylin. Säurefuchsin (1 : 500 in H_2O). Cdb. 10 μ.

Fig. 36. Zwei stark infizierte Hodenkanälchen mit gemeinsamem Ausführgang. — Wie in Fig. 35.

Fig. 37. Partie aus einer großen Parasitenansammlung. — Wie Fig. 36.

Fig. 38. Stückchen eines infizierten Hodens. 1 ½ mal vergrößert.

Fig. 39. Querschnitt durch ein schwach infiziertes Hodenkanälchen. — Alk. Eisessig. Par. Weigerts Eisenhäm. Säurefuchsin (1 : 500). Cdb. 5 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 4. Z.-App.

Fig. 40. Querschnitt durch ein stärker infiziertes Hodenkanälchen; das Lumen (l) fast verdrängt. — Wie Fig. 39.

Fig. 41. Querschnitt durch ein Hodenkanälchen mit stark hypertrophischen Kernen. — Alk. Eisessig. Boraxkarmin. Par. Wasserblau. Cdb. 5 μ. — Zeiß Apochr. Imm. 2 mm. Oc. 4. Z.-App.

Fig. 42—43. Querschnitt durch Hodenkanälchen mit stark hyperthropischen Kernen. — Alk. Eisessig. Boraxkarmin. Par. Weigerts Eisenhämatox. Cdb. 5 μ. — Zeiß Apochr. 2 mm. Comp. Oc. 4.

Fig. 44. Querschnitt durch den Hoden; Randpartie mit durch Parasiten verödeten Kanälchen. — Alk. Eisessig. Par. Giemsa. Cdb. — Photographie.

---

[1]) Fig. 32—37 sind Photographien, die auf Bromsilberpapier kopiert und nachgezeichnet wurden. Bei der großen Kompliziertheit der Bilder wurde dies Verfahren zur Vereinfachung des Zeichnens gewählt. Die Figuren leisten daher mehr als gewöhnliche Photographien und als gewöhnliche Zeichnungen.

Über Nachuntersuchungen bei Personen, die vor Jahren Typhus durchgemacht haben.

Von

Dr. Brückner,

Oberarzt im 1. Bad. Leib-Dragoner-Regiment Nr. 20, kommandiert zur bakteriologischen Untersuchungsanstalt für Unter-Elsaß zu Straßburg i. E.

Im Jahre 1907 veröffentlichte Kayser (1) eine im Auftrage von Prof. Forster ausgeführte Arbeit über Untersuchungen bei früher an Typhus erkrankt gewesenen Personen. Er konnte bei dieser Spätkontrolle von 101 abgelaufenen Typhen nach Jahr und Tag drei Bazillenträger (3 %) feststellen. Diese waren also bei den früheren Rekonvaleszenten-Untersuchungen der bakteriologischen Kontrolle entgangen. In der Umgebung eines dieser Fälle war tatsächlich auch bereits ein Typhusfall vorgekommen. Zahlreiche andere Arbeiten haben ebenfalls die „Bazillenträger" zum Gegenstand, teils mehr mit dem Endziel, festzustellen, wieviel Personen überhaupt nach überstandenem Typhus zu Krankheitsträgern werden, teils mit besonderer Berücksichtigung der Gefährlichkeit solcher Träger. Bezüglich der ersteren Frage seien hier folgende Untersuchungsergebnisse angeführt:

Nach Forster (2) werden 2 % der Erkrankten zu Dauerbazillenträgern, Klinger (3) fand, daß von 482 Typhen 1,7 % der Rekonvaleszenten Bazillenträger wurden, Kayser (4) fand unter 200 Fällen 1,5 %, Conradi (5) unter 400 Fällen 24 Träger = 6 %, Frosch (6, 7) und Lentz (8, 9) fanden 5 %, ebenso nimmt Kirchner (10) 5 % an; nach Schneider (11) kommen auf Grund eines großen Beobachtungsmaterials 3 % Bazillenträger auf alle Typhuskranke und Hetsch (12) erwähnt, daß 2,47 % zu Dauerausscheidern, 2,15 % zu Bazillenträgern wurden (zusammen = 4,62 %), Park (13) fand 5 %.

Diese Zahlen zeigen zur Genüge, daß ein beträchtlicher Teil der Typhus-Rekonvaleszenten die Krankheitskeime dauernd beherbergt und ausscheidet. Daß aber diese Zahlen (3—4 % im Durchschnitt) zu gering sind, kann aus folgenden Gründen mit Sicherheit angenommen werden:

1. sind unsere Untersuchungsmethoden zum Nachweis der Bazillen im Stuhl noch in mancher Hinsicht unvollkommen,

2. entgehen uns durch die zuweilen schubweis erfolgte Entleerung der Typhusbazillen manche Träger,

3. gehen die Bazillen sicherlich nicht selten im Körper auf ihrem Wege bis zum Darmende zugrunde, so daß auch dadurch ihr Nachweis im Stuhl oft nicht möglich ist. Gerade für diese Annahme sprechen mehrere neuere Untersuchungen im hiesigen Institut: bei Untersuchungen des Leichenmaterials von an Typhus verstorbenen Personen fanden sich fast stets reichlich Typhusbazillen in der Gallenblase und in den oberen Abschnitten des Dünndarms, aber nur selten auch im Dickdarm. Daraus schließt Prof. Forster, daß eben die Bazillen auf ihrem Wege von ihrer Brutstätte, der Gallenblase und den Gallenwegen, bis zum Darmende, häufig zugrunde gehen.

4. Einen Beweis aber, daß die oben angeführten Prozentzahlen der zu Bazillenträgern werdenden Typhus-Rekonvaleszenten zu gering ist, hat die anfangs erwähnte Arbeit von Kayser erbracht, nach der 3 % bei den Rekonvaleszenten-Untersuchungen als „bakteriologisch genesen" bezeichneten Personen später noch als Bazillenträger ermittelt wurden. Es müßte also diese Prozentzahl der obigen (3—4 %) noch zugezählt werden, wodurch die Zahl der bleibenden Bazillenträger unter den an Typhus erkrankten Personen auf 6—7 vom Hundert steigen würde. Das würde also dem von Conradi gefundenen Satze entsprechen. Freilich ist diese eine Nachuntersuchung Kaysers an nur 101 alten Typhen nicht eine endgültige prozentuale Feststellung. Hierfür sind Untersuchungen an weit umfangreicherem Materiale notwendig. Und diesem Zwecke soll auch die vorliegende Arbeit, die ich im Auftrage von Prof. Forster ausgeführt habe, dienen, sie soll einen weiteren Beitrag an größerem Materiale für die Notwendigkeit der Spätkontrollen liefern. Indem wir so bei den Rekonvaleszenten-Untersuchungen nicht ermittelte Bazillenträger noch später aufzudecken vermögen, werden wir durch weitgehendste Prophylaxe, durch Aufklärung der Träger über die Gefahr, die sie für andere Personen sind, und durch entsprechende Maßnahmen, ihre Umgebung schützen.

Die von mir vorgenommenen Nachuntersuchungen erstreckten sich auf insgesamt 16 Gemeinden, nämlich Straßburg, 4 Vororte von Straßburg und 11 andere Ortschaften des hiesigen Bekämpfungsbezirkes. Es wurden zunächst besonders solche Orte gewählt, in denen alle Jahre mehr oder weniger zahlreiche Typhus-Erkrankungen zur Beobachtung gekommen waren.

Insgesamt wurden Stuhl und Urin eingefordert von 566 Personen, die in früheren Jahren Typhus durchgemacht hatten. Von diesen waren gestorben 45 (= 8 %) und waren verzogen in andere Ortschaften bezw. waren nicht auffindbar 170 (= 30 %). Es kamen demnach in Betracht 351 Personen; von diesen verweigerten Materialabgabe 35 (= 9,9 %) und gaben Material 316 (= 90,1 %).

Ein Vergleich mit Kaysers Untersuchungen ergibt folgende Zahlen:

Bei Kayser kamen in Betracht 217 Typhen	(521)
Davon waren verzogen oder nicht zu finden 92 Personen	(170)
Stuhl und Urin wurden verlangt von 124 Personen . .	(351)
Von diesen weigerten Materialabgabe 24 Personen . .	(35)
Gaben Stuhl und Urin 101 Personen . .	(316)

d. h. es weigerten sich bei Kayser 19 % (jetzt 9,9 %).

Diese immerhin noch hohe Prozentzahl (9,9 %) ist zum großen Teil bedingt durch eine (kleine) Ortschaft Sch., in der 21 alte Typhen in Betracht kamen, von denen jedoch 12 (= 57 %!) Material verweigerten. Dieser Ort ist aber der Anstalt ohnedem als sehr widerspenstig bekannt, wobei ungünstige ärztliche Verhältnisse mitspielen und der dort ansässige Desinfektor wenig tüchtig ist. Nimmt man aber nur den Stadtbezirk Straßburg — Kaysers Untersuchungen beziehen sich nur auf diesen — so weigerten jetzt von 174 Personen, die in Betracht kamen, nur 9, d. h. nur 5,17 %. Diese Zahlen liefern einen interessanten Beitrag für den Erfolg der Typhusbekämpfung: das Publikum hat allmählich begonnen, sich den Anordnungen der Anstalt kaum mehr widerstrebend zu zeigen und so auf seine Weise die Tätigkeit der Typhusanstalten anzuerkennen. Ereignete es sich doch sogar zweimal, daß der Desinfektor Stuhl und Urin von zwei früheren Typhuskranken mitbrachte, von denen gar kein Material einverlangt war. Die betreffenden Personen hatten ihn zufällig im Hause gesehen, wiedererkannt und nicht eher geruht, bis er auch von ihnen Material zur Untersuchung mitnahm.

In der folgenden Tabelle soll nun eine allgemeine Übersicht über meine Untersuchungen gegeben werden. Die Tabelle ist nach Ortschaften und Jahren geordnet.

Ort	Geschlecht			1898	1899	1904	1905	1906	1907	1908	Summa	Ty. +	Para. B +
	m.	w.	K.										
Str.	44	63	58	—	—	—	30	87	48	—	165	3	2
Bö.	15	15	—	19	9	—	—	1	—	1	30	1	—
Kl.	7	3	1	8	—	—	—	—	1	2	11	2	—
Schi.	6	9	9	—	—	6	7	6	5	—	24	—	—
Bi.	8	9	8	—	—	12	2	10	1	—	25	—	—
Sch.	1	4	1	—	—	4	1	2	2	—	9	—	—
K.	2	1	1	—	—	1	—	—	1	2	4	—	—
Ba.	4	1	1	—	—	1	—	—	3	2	6	1	—
O.	2	3	15	—	—	1	2	4	5	8	20	—	—
J.	3	1	3	—	—	—	—	7	—	—	7	2	—
H.	—	2	1	—	—	—	—	—	3	—	3	—	—
Schl.	4	5	3	—	—	4	1	1	1	5	12	—	1
Summa	96	116	104	27	9	29	43	118	70	20	316	9	3
positiv	6 1B	5 1B	1B	2	1	—	—	7 2B[1])	1	1B	—	12	

Aus dieser Tabelle geht hervor: Unter 316 Personen, deren Stuhl und Urin untersucht wurde, fanden sich Bazillen bei 12 (= 3,8 %) und zwar 9mal Typhusbazillen und 3mal Paratyphus B-Bazillen. Zieht man aber in Betracht, daß von den 316 Untersuchten 104 Kinder unter 15 Jahren waren, und daß Kinder bis zu 10 Jahren fast nie, etwas ältere höchst selten Bazillenträger werden, so kommen auf 212 untersuchte Erwachsene 11 positive Befunde (= 5,2 %). Auf die Beteiligung der verschiedenen Geschlechter bei den positiven Befunden soll weiter unten noch

[1]) Von diesen 7 wurde 1906 eine Person als Bazillenträger aufgedeckt, hatte Typhus 1880 (vergl. unten Nr. 8).

näher eingegangen werden. Zunächst seien hier im einzelnen noch folgende Ergebnisse hervorgehoben:

1. Frau L., Kath., aus J. machte im Sommer 1906 Typhus durch. Befunde: 19. 6. 06. Gruber-Widal + T_{100}, Stuhl +, Urin —; 20. 6. desgl.; 27. 7. Stuhl +, Urin +; 1. 8. Stuhl —, Urin +, ebenso am 6. 8. und 13. 8. Die folgenden vier Urin- und zwei Stuhluntersuchungen am 17. 8., 21. 8., 27. 8. und 17. 10. 06 waren negativ, worauf Frau L., die allerdings auffallend lange (2 Monate) Typhusbazillen ausgeschieden hatte, als „bakteriologisch genesen" bezeichnet wurde. Bei den jetzigen Nachuntersuchungen fanden sich am 11. 12. 08, 15. 12. 08, 2. 1. 09, 30. 1. 09 und 20. 3. 09 stets Typhusbazillen im Stuhl und einmal, am 15. 12., auch im Urin. Die Frau muß demnach als Dauerausscheiderin gelten.

2. Herr L., Joh., aus I., 48 J., Ackerer, erkrankte ebenfalls im Sommer 1906 an Typhus. Seit dem 13. 9. 06 war er als Bazillenträger gemeldet und schied noch am 26. 4. 07 Typhusbazillen aus. Es folgten drei negative Untersuchungen am 7. 6., 23. 9. und 27. 10. 07, weshalb er nunmehr als Bazillenträger gestrichen wurde. Die jetzigen Untersuchungen ergaben: 11. 12. 08 Stuhl —, Urin +; 15. 12 desgl.; 2. 1. 09 Stuhl +, Urin —; 23. 1. 09 Gruber-Widal + T_{50}, Stuhl +, Urin —; 20. 3. Stuhl +. Herr L. ist also ebenfalls Dauerauscheider. Ein Sohn von 1. und 2. erkrankte im Winter 1908/09 an Typhus, der einzige dieser achtköpfigen Familie, der bei der Hausepidemie im Jahre 1906 gesund geblieben war. Es ist daher mit Sicherheit anzunehmen, daß er jetzt von seinen Bazillen tragenden Eltern infiziert worden ist, zumal im Ort und seiner Umgebung zurzeit keine weiteren Typhuserkrankungen waren.

Zu 1. und 2. soll hier gleich noch bemerkt werden, daß man mit der Beurteilung des Befundes von Typhuskeimen im Urin doch vorsichtig sein muß, da, besonders bei Frauen (aber auch bei Männern), eine Beimischung geringer Mengen von Kot zum Harn nicht auszuschließen ist. Wenn man Harn mit typhusbazillenhaltigem Stuhle impft, so vermehren sich bei Zimmertemperatur nicht bloß Kolibakterien, sondern auch Typhusbakterien im Laufe von wenigen Stunden.

3. E., Jak., 58 J., aus Str., war im Spital in der psychiatrischen Klinik beschäftigt, als dort im Jahre 1906 ein Typhus vorkam. Bei den Umgebungsuntersuchungen wurde er am 17. 3. 06 als Bazillenträger ermittelt. Er will im Jahre 1880 Typhus gehabt haben. Er sonderte Typhusbazillen in großen Unterbrechungen aus: 24. 3. 06 Gruber-Widal = 0; 29. 3. und 5. 4. Stuhl +; am 10. 4. und 19. 4. —; 20. 4. Stuhl +, fünf folgende Untersuchungen waren wieder negativ, 20. 5. Stuhl +, nach weiteren aufeinanderfolgenden acht! negativen Untersuchungen, bis zum 16. 10. 06, wurde er als Bazillenträger gestrichen. Am 5. 1. 09 Stuhl +, Urin —; 14. 1. desgl., 23. 1. Gruber-Widal + T_{100}; 2. 2. 09 desgl., 6. 2. Stuhl +, Urin —; 10. 4. Stuhl +.

4. Schwester I., 32 J., aus Str., Typhus Oktober 1906. 25. 10. 06 Stuhl +, Urin —. Nach drei negativen Untersuchungen am 2. 11., 10. 11. und 15. 11. wurde sie als „bakteriologisch genesen" bezeichnet. Jetzt fanden sich am 26. 2. und 19. 3. 09 Typhusbazillen im Stuhl, der Urin war beide Male negativ.

5. K., Pauline, 16 J., aus Str., Typhus 1906. Untersuchungen: 25. 5. 06 Gruber-Widal + T_{100}, Stuhl und Urin —, ebenso 2. 6. Am 15. 6. Typhusbazillen im

Stuhl. Weitere drei Untersuchungen vom 25. 6., 2. 7. und 10. 7. negativ. Als „bakteriologisch genesen“ gemeldet. Am 16. 2. 09 Typhusbazillen im Stuhl, weitere Untersuchungen am 27. 2. und 6. 3. negativ. Bemerkenswert ist, daß ihre Schwester K. Coelestine, die 1906 mit ihr zu gleicher Zeit erkrankt war, damals eine Zeitlang als Bazillenträgerin geführt wurde. Die bei ihr jetzt zur selben Zeit ausgeführten Untersuchungen am 16. 2., 27. 2. und 6. 3. 09 waren jedoch negativ.

6. Frau Le., 35 J., aus Str., hatte 1906 Paratyphus B und war danach als Paratyphus B-Trägerin gemeldet, wurde aber später nach drei negativen Untersuchungen gestrichen. 16. 2. 09 Stuhl und Urin negativ; 27. 2. Stuhl + Paratyphus B, Urin —; 6. 3. desgl. Frau Le. ist gallensteinleidend.

7. P., Magdalena, 8 J., aus Str., 1906 Paratyphus B. 20. 8. 06 Gruber-Widal + B_{100}. Nach drei negativen Rekonvaleszenten-Untersuchungen galt sie als „bakteriologisch genesen“. 3. 3. 09 und 9. 3. 09 Paratyphus B-Bazillen im Stuhl, Urin negativ.

8. u. 9. G., Karl, und G., Wilhelm, Brüder, 18 und 24 J., aus Kl., hatten Typhus 1898. Am 16. 3. 09 bei beiden im Stuhl Typhusbazillen, eine zweite Untersuchung am 5. 4. 09 war negativ.

10. K., Ernst, aus Schl., 17 J. alt, hatte im Sommer 1908, also vor $^3/_4$ Jahren, Typhus. Nach drei negativen Rekonvaleszenten-Untersuchungen galt er als „bakteriologisch genesen“. 19. 3. 09 Paratyphus B-Bazillen im Stuhl. Weitere Untersuchungen konnten bei ihm nicht vorgenommen werden, da er sich weigerte, nochmals Material zu geben.

11. Frau R. aus Bö., 49 J., Typhus 1899. Bei den Untersuchungen am 20. 3. und 5. 4. fanden sich in ihrem Stuhl Typhusbazillen in großen Mengen.

12. Ki., Josef, aus Ba., 31 J. alt, Fabrikarbeiter, Typhus 1907. Nach dreimaligen negativen Rekonvaleszenten-Untersuchungen als „bakteriologisch genesen“ bezeichnet. 19. 11. 08 Typhusbazillen im Stuhl. Weitere Untersuchungen konnten bei ihm nicht vorgenommen werden, da er sich auf „Wanderschaft“ nach Frankreich begeben hatte.

Bei diesen Befunden ist zunächst bemerkenswert, daß unter den 12 Trägern 6 Männer und 1 Kind, aber nur 5 Frauen vertreten sind. Steht es doch fest, daß in der größten Mehrzahl Frauen zu Bazillenträgerinnen werden. So fand Forster (14) unter 100 Trägern 79 Frauen, 17 Männer und 4 Kinder. Frosch (7) hat berechnet, daß Frauen bei Dauerausscheidern mit 82 %, bei Bazillenträgern mit 60 %, Kinder bei ersteren mit 4 %, bei letzteren mit 35 % vertreten sind, Männer also nur mit 16 % bezw. 5 %. Es muß jedoch bei meinen Befunden in Betracht gezogen werden, daß zwei männliche Personen (Fall 2 und 3) früher bereits der Anstalt eine Zeitlang als Bazillenträger bekannt waren und nur jetzt von neuem wieder als solche aufgedeckt worden sind, daß ferner ein anderer Fall (10) 1908 einen echten Typhus mit Bazillenfund durchmachte, jetzt aber Paratyphus-Bazillen ausscheidet. Auch konnten bei zwei anderen männlichen Personen (8 und 9) nur einmal Typhusbazillen im Stuhl gefunden werden, bei der letzten (12) war dies aus äußeren Gründen nur einmal möglich. Bei allen diesen männlichen Personen fanden sich die Bazillen aber nur in geringeren Mengen (ausgenommen Fall 2 und 3), während sie bei den Frauen stets

zahlreich, zuweilen fast in Reinkultur (Fall 1, 4, 6, 11) beobachtet wurden. Es zeigt sich also auch hier das Übergewicht der weiblichen Personen in der Bazillenausscheidung und damit auch ihre größere Gefährlichkeit. Für letztere kommt noch besonders hinzu, daß Frauen durch ihre Tätigkeit (Hauswirtschaft) mehr als Männer zu einer Gefahr bietenden Verbreitung der Krankheitskeime disponieren.

So verfügt die Anstalt über eine Bazillenträgerin M. in S., die ihr seit Jahren bekannt ist, und von der Jahr für Jahr eine oder mehrere Infektionen ausgehen; diese haben schon die stattliche Summe von 13 erreicht, darunter erst im letzten Jahre — 1908 — ein Todesfall (Kostgänger bei Frau M.). Da Frau M. allen Desinfektionsmaßnahmen und behördlichen Vermahnungen entschiedenen Widerstand entgegensetzt, wird sie auch weiter eine ständige Gefahr für ihre Umgebung bleiben.

Eine Ansicht, wie sie Richter (15) in einer Veröffentlichung ausspricht, daß eine Ansteckungsfähigkeit der Bazillenträger nicht zu befürchten sei, da die mit dem Stuhl oder Urin in die Abortgruben entleerten Typhuskeime der Bazillenträger bald abstürben, die im Freien entleerten aber durch Einwirkung des Sonnenlichts bald zugrunde gingen, ist daher in keiner Weise zu rechtfertigen. Das Gegenteil ist durch zahlreiche einwandfreie Beobachtungen erwiesen. So berichtet Friedel (16) von einer Köchin (Dauerausscheiderin), die in 8 Jahren in acht Familien, in denen sie nacheinander diente, 24 Erkrankungen an Typhus verursachte, und Saper (17) von einer anderen Köchin (ebenfalls Dauerausscheiderin), die in sieben Familien 26 Erkrankungen hervorgerufen hatte. Zahlreich sind ferner die Beobachtungen über Infektionen durch Milchgenuß, bei denen die Milch durch Bazillenträger verunreinigt worden war (Forster (14), Klinger (4), Kayser (18), Thomas (19), Hilgermann (20) und andere). Erst kürzlich sah Scheller (21) von einer in einer Meierei bei Königsberg beschäftigten Dauerausscheiderin 32 Typhuserkrankungen ausgehen. Auch Kossel (22) berichtet von einer größeren Epidemie durch Milchbetrieb, verursacht von einer Bazillenträgerin. Bezüglich der Gefährlichkeit der Bazillenträger im allgemeinen glaubt Forster, daß etwa 20—27 % aller Typhen auf diese zurückgehen, nach Kayser waren es unter 205 Fällen 13,5 %, nach Schneider sind es 5,01 %.

Die Frage, warum in den einzelnen Fällen von einem Typhusbazillenträger Infektionen ausgehen können, im anderen Falle nicht, ist jedoch noch nicht genügend geklärt. Nach neueren Untersuchungen [E. Levy und Wieber (23), Hilgermann (20)] wird angenommen, daß die von Parasitenträgern ausgeschiedenen Mikroorganismen in der Regel nicht so virulent sind wie die von den Kranken stammenden, und daß für Neuerkrankungen ein begünstigendes Moment hinzukommt (Erkältung, Trauma, Elend, wiederholte Aufnahme der Keime, Nahrungsmittel, besonders Milch, in der sie sich vermehren). Conradi (24) hält bei Einzelkontakten durch Bazillenträger die Infektionsgelegenheit dann am günstigsten, entweder wenn ein notorischer Bazillenträger zuzieht oder ein Ortsfremder in das Haus eines notorischen Bazillenträgers einzieht. Jedenfalls steht die Tatsache fest, daß der eine Bazillenträger für seine Umgebung außerordentlich gefährlich werden kann, während ein anderer monate-, ja jahrelang als Träger bekannt ist, ohne daß es in seiner Umgebung zu Neuerkrankungen kommt.

Auf alle Fälle ist es aber, wie auch aus meinen Untersuchungen hervorgeht, dringend geboten, durch Spätkontrollen früherer Typhen nach Bazillenträgern zu fahnden, insbesondere solche Personen, die in ihrer Rekonvaleszenz (wie Fall 1) auffallend lange Bazillen ausschieden, längere Zeit, etwa 1 Jahr, nicht aus der bakteriologischen Kontrolle zu entlassen, einmal festgestellte Bazillenträger (Fall 3) aber nach Jahr und Tag stets von neuem zu untersuchen.

Wir werden aus solchen Nachuntersuchungen einen zweifachen Nutzen haben:

1. die Aufdeckung des Vorkommens manches bisher dunklen Typhusfalles, und

2. die Möglichkeit des Schutzes anderer Personen vor Ansteckung; denn nach dem großen Beobachtungsmaterial dreier Jahre der Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches ereigneten sich von 276 Infektionen, die von Bazillenträgern ausgingen, 228 vor Feststellung dieser Personen, und nur 48 (= 0,7 % aller Infektionen der dreijährigen Berichtszeit) nach deren Ermittelung.

Literatur.

1. H. Kayser, Über Untersuchungen bei Personen, die vor Jahren Typhus durchgemacht haben, und die Gefährlichkeit von „Bazillenträgern". Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1907, Bd. 25, S. 223.

2. J. Forster, Über die Beziehungen des Typhus und Paratyphus zu den Gallenwegen. Münch. Med. Wochenschr. 1908, S. 1.

3. P. Klinger, Über Typhusbazillenträger. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1906, Bd. 24, S. 91.

4. H. Kayser, Über die Gefährlichkeit von Typhusbazillenträgern. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1906, Bd. 24, S. 176.

5. Conradi, Die Kontagiosität des Typhus. Klin. Jahrb. 1907, Bd. 17, H. 2.

6. P. Frosch, Über regionäre Typhus-Immunität. Festschrift für Koch 1903.

7. Derselbe, Die Verbreitung des Typhus durch sogen. „Dauerausscheider" und „Bazillenträger." Klin. Jahrbuch 1908, Bd. 19, H. 4, S. 537.

8. Lentz, Über chronische Typhusbazillenträger. Klin. Jahrb. 1905, Bd. 14.

9. Derselbe, Ätiologie und Prophylaxe des Typhus und Paratyphus. Med. Klinik 1907, Nr. 10.

10. M. Kirchner, Die Verbreitung übertragbarer Krankheiten durch sogen. „Dauerausscheider" und „Bazillenträger." Klin. Jahrb. 1908, Bd. 19, H. 4.

11. Schneider, Moderne Typhusbekämpfung. XIV. Internationaler Kongreß für Hygiene und Demographie. Berlin, Sept. 1907, Bd. 2, S. 1131—93.

12. Hetsch, Die Verbreitung übertragbarer Krankheiten durch sogen. „Dauerausscheider" und „Bazillenträger". Sammelreferat. Zentralbl. f. Bakteriol. I. Abt. Ref. 1909, Bd. 43, Nr. 6—8.

13. Park, Typhoid bacilli carriers (Journal of the American med. Ass. Vol 51, Nr. 12, 1908). Ref. Zentralbl. f. Bakt. 1909, Bd. 43, Heft 6—8, S. 198.

14. J. Forster, Über Typhusbazillenträger. Vortrag, gehalten für die Straßburger Ärzte. Februar 1908. Ref. Straßburger Med. Zeitung 1908, H. 2.

15. Richter, Zeitschr. f. Med. Beamte 1904, S. 840 und 1905, Nr. 2, S. 38.

16. Friedel, Die Typhus-Untersuchungen des Laboratoriums der Königl. Regierung zu Coblenz. Hygien. Rundschau 1906, Nr. 1, S. 5.

17. Soper, Weiterer Bericht von Park im Journ. of the American med. Ass. Vol. 51, 1908. Ref. im Zentralbl. f. Bakt. 1909. I. Abt. Orig. Bd. 6—8.

18. H. Kayser, Milch und Typhusbazillenträger. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1906, Bd. 24, S. 173.

19. Thomas, Typhus-Untersuchungen während des Jahres 1905/1906. Klin. Jahrb. Bd. 17, H. 2.

20. R. Hilgermann, Über Bazillenträger beim Typhus. Klin. Jahrb. 1908, Bd. 19, H. 3, S. 463.

21. R. Scheller, Beiträge zur Typhusepidemiologie. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 46, H. 5.

22. H. Kossel, Zur Verbreitung des Typhus durch Bazillenträger. Deutsch. Med. Wochenschr. 1907, Nr. 39, S. 1584.

23. E. Levy und Wieber, Bazillenträger und Disposition am Beispiele des Abdominaltyphus. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 43, H. 5, S. 419.

24. Spartaco Minelli, Über Typhusbazillenträger und ihr Vorkommen unter gesunden Menschen. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 1906, Bd. 41, H. 4.

25. E. Baumann, Bazillenträger und Typhusverbreitung. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1908, Bd. 28, S. 377.

26. Grimme, Über Typhusbazillenträger in den Irrenanstalten. Münch. med. Wochenschr. 1908, S. 16.

27. A. Nieter, Über das Vorkommen und die Bedeutung von Typhusbazillenträgern in Irrenanstalten. Münch. Med. Wochenschr. 1907, Nr. 33, S. 1622.

28. A. Nieter und H. Liefmann, Über bemerkenswerte Befunde bei Untersuchungen auf das Vorhandensein von Typhusbazillenträgern in einer Irrenanstalt. Münch. Med. Wochenschr. 1906, Nr. 33.

29. Park, Journ. of Amer. Ass. Nr. 12, 1908. Ref. in der Deutsch Med. Wochenschr. 1908.

30. Über die Quellen der Ansteckung mit Typhus. Festschr. für Koch 1903.

Über die Brauchbarkeit des Natrium taurocholicum als Zusatz zum Löfflerschen Malachitgrünagar.

Von

Dr. A. Müller,

ständigem Mitarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Die Tatsache, daß in der Gallenblase an Typhus erkrankter Personen häufig der Krankheitserreger sehr zahlreich und in Reinkultur zu finden ist, hat eine Reihe von Arbeiten zur Folge gehabt, die sich mit der Einwirkung der Galle auf das Bact. typhi und ihrer möglichen Verwendbarkeit zur Herstellung von Nährmedien beschäftigten, durch welche eine Begünstigung der Typhusbazillen bei gleichzeitiger Hemmung etwa vorhandener Begleitbakterien bewirkt werden sollte. Die Ergebnisse der einschlägigen Untersuchungen von Fischer[1]), Fränkel und Krause[2]), Dörr[3]), Pies[4]), Conrad[5]), Kayser[6]), Fornet[7]), Ditthorn und Gildemeister[8]), Schiffner[9]) und anderen lassen sich dahin zusammenfassen, daß allerdings dort, wo Typhusbazillen zwar spärlich, aber in Reinkultur vorhanden sind, z. B. im Blute an Typhus erkrankter Personen, Galle mit bestem Erfolge als Zusatz zu festen und flüssigen Nährmedien verwendet werden kann, daß dagegen kein oder ein ganz geringer Vorteil zu

---

[1]) Über die Wirkung der Galle auf Typhus- und Milzbrandbazillen. Inaug.-Diss. Bonn 1894.

[2]) Bakteriologisches und Experimentelles über die Galle. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 32, S. 97.

[3]) Experimentelle Untersuchungen über das Fortwuchern von Typhusbazillen in der Gallenblase. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. 1905, Bd. 39, S. 624.

[4]) Untersuchungen über die Wachstumsgeschwindigkeit der Typhusbazillen in Galle. Inaug.-Diss. Straßburg 1907 u. Archiv f. Hyg. 1907, Bd. 62, S. 107.

[5]) Ein Verfahren zum Nachweis der Typhuserreger im Blut. Deutsche Med. Wochenschr. 1906, S. 58. — Über die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute mittels der Gallenkultur. Münchener Med. Wochenschr. 1906, S. 1654.

[6]) Über die einfache Gallenröhre als Anreicherungsmittel und die Bakteriologie des Blutes bei Typhus sowie Paratyphus. Münch. Med. Wochenschr. 1906, S. 823. — Weiteres über die Verwendung der Gallenröhre zur Blutkultur. Ebenda 1906, S. 1953. — Zur Frühdiagnose und Bakteriologie des Typhus sowie Paratyphus. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. 1906, Bd. 42, S. 185.

[7]) Über die Bakterizidie der Galle. Archiv f. Hyg. 1907, Bd. 60, S. 134. Ein Beitrag zur Züchtung von Typhusbazillen. Münch. Med. Wochenschr. 1906, S. 1862.

[8]) Eine Anreicherungsmethode für den Nachweis von Typhusbazillen im Trinkwasser bei der chemischen Fällung mit Eisenoxychlorid. Hyg. Rundschau 1906, S. 1376.

[9]) Die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute auf Gallenagar. Münch. Med. Wochenschr. 1907, S. 1722.

erwarten ist, wenn es darauf ankommt, vereinzelte Typhuskeime in einem Bakteriengemisch nachzuweisen.

In einem gewissen Gegensatz zu dieser Ansicht gibt Löffler[1]) an, daß er bei Herstellung seines Grünagars, der doch gerade die Isolierung von Typhus aus einer großen Zahl anderer Bakterien bezweckt, mit Vorteil einen Zusatz von 2 % Rindergalle verwendet habe, unter gleichzeitiger Erhöhung des Malachitgrüngehaltes von 1,5 ccm einer 0,2 %igen, wässerigen Lösung auf 1,9 ccm zu 100 ccm Agar. Bei dem neuerdings beschriebenen Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Nährboden[2]) behält er ebenfalls den Gallezusatz bei, den auch Padlewsky[3]) bei seinem Agar verwendet.

Da nun aber die Gallenflüssigkeit ein Gemisch darstellt, dessen Bestandteile durchaus nicht immer in gleichen Mengenverhältnissen vertreten sind — nach Hammarsten[4]) enthält die Rindergalle bisweilen überwiegend Taurocholsäure, in andren Fällen überwiegend Glykocholsäure — so war es natürlich, daß außer der Galle auch ihre hauptsächlichsten Komponenten, die gallensauren Salze mit in den Kreis der Untersuchungen gezogen wurden. Meyerstein[5]), der in diesen Salzen die bakteriologisch wirksamen Bestandteile der Galle erkannte, gibt an, daß taurocholsaures Natrium in Mengen von 1—10 % die Entwicklung von Bact. coli mindestens in dem gleichen Maße begünstigt, wie die des Typhuserregers, daß das glykocholsaure Salz dagegen nur Bact. coli fördert. Auch E. und A. Kindborg[6]) kommen zu dem Schluß, daß aus diesem Grunde durch Zusatz gallensaurer Salze zum Nährboden zwecks besserer Isolierung von Bact. typhi aus Bakteriengemischen nichts zu erreichen ist. E. Fürth[7]) fand bei seinen Versuchen über den Wert des Leuchsschen Malachitgrünagars, daß durch einen derartigen Zusatz — er benutzte ein Gemisch des taurochol- und glykocholsauren Salzes — trotz bedeutender Steigerung des Malachitgrüngehaltes Bact. coli im Wachstum mehr gefördert wird als der Typhusbazillus.

Andrerseits enthält der von Mac Conkey[8]) angegebene Gallensalz-Neutralrot-Agar, welcher zum quantitativen Nachweis von Bact. coli im Wasser dient, Natriumtaurocholat, das mit gutem Erfolg — zum Zurückhalten einer großen Zahl von

[1]) Zum Nachweis und zur Differentialdiagnose der Typhusbazillen mittels der Malachitgrünnährböden. Deutsche Med. Wochenschr. 1907, S. 1581.

[2]) Löffler, Walter, Dibbelt und Wehrlin, Ein neues Verfahren zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbakterien mittels Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Nährböden. Deutsche Med. Wochenschr. 1909, S. 1297.

[3]) Eine neue Anwendungsmethode des Malachitgrünagars zum Nachweis von Bazillen der Typhusgruppe. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. 1908, Bd. 47, S. 540.

[4]) Lehrbuch der physiologischen Chemie. 6. Auflage, 1907, S. 329.

[5]) Über Typhusanreicherung. Münch. Med. Wochenschr. 1906, S. 1864. — Zur Frühdiagnose des Typhus. Ebenda 1906, S. 2148. — Über die bakteriologische Bedeutung der Gallensalze. Zentralblatt f. Bakt., Abt. I, Orig. 1907, Bd. 44, S. 434.

[6]) Über eine neue Farbenreaktion zur Erkennung des Typhusbazillus und verwandter Arten im Plattenausstrich. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. 1908, Bd. 46, S. 554.

[7]) Über den Wert des Leuchsschen Malachitgrünagars zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbazillen. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. 1908, Bd. 46, S. 81.

[8]) A. a. O.

Wasserbakterien mit Ausschluß der Vertreter der Koligruppe — dem Nährboden zugesetzt wird. Die oben erwähnten Angaben Löfflers[1]) und Padlewskys[2]), ferner der Befund Meyersteins[3]), daß nur das taurocholsaure Salz bei der Förderung der Typhuskeime in Frage kommt, schließlich die Verwendung, welche dieses Salz in England und in Amerika im Gallensalz-Neutralrot-Agar bei der Wasseruntersuchung gefunden hat, legten den Gedanken nahe, ob es nicht doch möglich sein sollte, durch Zusatz von taurocholsaurem Natrium an Stelle der Galle zum Löfflerschen Malachitgrünagar einen Nährboden zu gewinnen, der eine kräftige Entwicklung von Bact. typhi bei gleichzeitiger starker Entwicklungshemmung aller übrigen, besonders in verschmutzten Wässern vorhandenen Begleitbakterien, also auch des Bact. coli, sicherte.

Der mit diesem Ersatz verbundene Vorteil würde darin bestehen, daß an Stelle der nicht immer leicht zu beschaffenden Galle ein stets gebrauchsfertiges, haltbares Präparat treten würde, und daß vor allen Dingen bei Verwendung des reinen Salzes eine gleichmäßigere Beschaffenheit des Agars hinsichtlich seiner Bact. typhi fördernden Eigenschaften gewährleistet werden könnte, als es bei Zusatz der in ihrer Zusammensetzung wechselnden Galle möglich ist.

In Versuchen mit Reinkulturen mußte zunächst nach einem wirksamen Mengenverhältnis von Natriumtaurocholat zu Malachitgrün gesucht werden. In allen Fällen wurde ein Agar benutzt, der genau nach den Vorschriften Löfflers[4]) hergestellt wurde, nur mit dem Unterschied, daß das Lösen des Agars nicht durch Zugabe von Salzsäure, sondern durch einhalbstündiges Kochen im Autoklaven bei 0,2 Atmosphären Überdruck bewirkt wurde. Da das Absitzen des Agars auch nach 2 mal zweistündigem Erhitzen im Dampftopf nie so vollständig erfolgte, daß sich nicht doch noch kleine Flocken auch in den oberen Schichten vorfanden, so wurde nach dem Entfernen des Bodensatzes der Agar nach Verflüssigung im Dampftopf kurze Zeit (etwa 10—15 Minuten) im Autoklaven erhitzt, wobei ein Überdruck von 0,2 Atmosphären erreicht wurde, und dann sofort im strömenden Dampf durch ein einfaches Filter filtriert. Auf diese Weise wurde ein stets gleichmäßig klarer Nährboden erhalten, bei dem das von Löffler beobachtete, durch Trübungen bedingte Abschwächen der Malachitgrünwirkung nicht zu befürchten war. Der Agar wurde zu 100 ccm im Kölbchen abgefüllt; nach dem Verflüssigen wurde dann das Natriumtaurocholat[5]) in Substanz oder in wässeriger Lösung und — nach dem Abkühlen auf 50 ° C — die 0,2 %ige wässerige Malachitgrünlösung[6]) hinzugegeben. Wie von Löffler[7]) und Fürth[8])

[1]) A. a. O.

[2]) A. a. O.

[3]) The Differentiation and Isolation from Mixtures of the Bacillus Coli Communis and Bazillus Typhosus by the Use of Sugars and the Salts of Bile. Thompson-Yates Laboratories Report 1900, S. 41. Further Note on Bile-salt Laktose Agar. Ebenda 1901, S. 151.

[4]) Der kulturelle Nachweis von Typhusbazillen in Fäces, Erde und Wasser mit Hilfe des Malachitgrüns. Deutsche Med. Wochenschrift. 1906, S. 289.

[5]) Natrium taurocholicum von Merck.

[6]) Malachitgrün krist. chem. rein, Chlorzink-Doppelsalz aus den Höchster Farbwerken.

[7]) A. a. O.

[8]) A. a. O.

konnte auch hier nach nochmaligem Erhitzen des fertigen Grünagars eine deutliche Abschwächung der Malachitgrünwirkung beobachtet werden, wohingegen die Wirkung des Gallensalzes dadurch nicht beeinflußt wurde.

Von Versuchen mit Nährböden verschiedenen Alkaleszenzgrades, auf dessen Bedeutung für die Wirkung des Malachitgrüns neuerdings Schindler[1]) wieder hingewiesen hat, wurde, um die Arbeit nicht unnötig auszudehnen, abgesehen.

Zu den Versuchen wurden Aufschwemmungen von Agarkulturen in 0,8 %iger steriler Kochsalzlösung benutzt. Die Aussaat selbst wurde zunächst mit Hilfe der von Spitta und dem Verfasser[2]) beschriebenen Versprühungsmethode vorgenommen. Auf diese Weise wurde ein bequemes quantitatives Bestimmen der entwickelten Kolonien — unter Wahrung der in der Praxis gebräuchlichen Oberflächenkulturen — bei bedeutend geringerem Nährbodenverbrauch, als es die Benutzung des Drigalskispatels zuläßt, ermöglicht. Denn um bei seiner Verwendung quantitative Ergebnisse zu erhalten, ist das Abstreichen etwaiger, dem Spatel anhaftender Keime auf einer zweiten Platte unerläßlich. Bei obiger Methode war allerdings zu berücksichtigen, daß durch das Versprühen an sich ein Teil der Typhuskeime in ihrer Entwicklung behindert wird. Da jedoch zum Vergleich immer nur besprühte Platten herangezogen wurden, deren Keime also in gleicher Weise beeinflußt waren, ist dieser Umstand bei der Bewertung der einzelnen Nährböden ohne Bedeutung. Zu den orientierenden Versuchen wurde Bacterium typhi Stamm Coblenz und Bact. coli Stamm Σ benutzt, beides Stämme, die schon längere Zeit im Laboratorium fortgezüchtet waren. Der Colistamm war, wie die Prüfung seines morphologischen und färberischen Verhaltens, sowie die Prüfung nach dem von Bulir[3]) angegebenen Verfahren bewies, ein typisches Bact. coli.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle I zusammengestellt. Zum Verständnis dieser und aller weiteren Tabellen sei bemerkt, daß mit N. Ag. („Nutroseagar") ein nach Angaben Löfflers gefertigter Agar ohne Zusatz von Malachitgrün und Natriumtaurocholat bezeichnet ist, mit M. Ag. („Malachitgrün-Agar") derselbe Agar mit einem Zusatz von soviel Prozent 0,2 %iger wässeriger Malachitgrünlösung, als die dahinter stehende Zahl angibt. Die an diese durch ein + Zeichen angehängte und mit T (Taurocholat) bezeichnete Zahl endlich gibt die zu 100 ccm Agar hinzugefügte Menge des Natriumtaurocholats in g an.

Alle Platten wurden nach dem Besprühen ½ Stunde bei abgehobenem Deckel im Brutschrank getrocknet und weiter bei 37 ° C gehalten.

---

[1]) Über Malachitgrünnährböden. Zeitschr. f. Hyg. 1909, Bd. 63, S. 91.

[2]) Beiträge zur Frage des Wachstums und der quantitativen Bestimmung von Bakterien an der Oberfläche von Nährböden. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXXIII, 1909, S. 145.

[3]) Bedeutung und Nachweis des Bacterium coli im Wasser und eine neue Modifikation der Eijkmanschen Methode. Archiv f. Hyg. 1907, Bd. 62.

Tabelle I.

Versuch Nr.	Art und Alter der zum Versprühen benutzten Kultur	Art des benutzten Nährbodens	Zählung nach Stunden	Keimzahl in 1 ccm	Ernte, auf N.-Ag. berechnet, beträgt — %
1	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag. M. Ag. 0,5 M. Ag. 0,5 + 0,5 T	24	58 400 8 300 35 100	100 14 60
	Bact. coli Σ, Agarkultur 24 Std. bei 37°	N. Ag. M. Ag. 0,5 M. Ag. 0,5 + 0,5 T	24	99 300 0 13 000	100 0 13
2	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 0,8 M. Ag. 0,8 + 0,5 T	24	65 800 12 000 60 600	100 18 95
	Bact. coli Σ, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 0,8 M. Ag. 0,8 + 0,5 T	24	109 700 0 68 900	100 0 62
3	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 24 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 1,0 M. Ag. 1,0 + 0,5 T	24	28 600 0 12 800	100 0 45
	Bact. coli Σ, Agarkultur, 24 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 1,0 M. Ag. 1,0 + 0,5 T	24	122 100 0 0	100 0 0
4	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 1,4 M. Ag. 1,4 + 0,5 T	24	65 800 334 29 900	100 0,5 45
	Bact. coli Σ, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 1,4 M. Ag. 1,4 + 0,5 T	24	38 500 0 0	100 0 0
5	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 1,0 M. Ag. 1,0 + 0,5 T M. Ag. 1,4 M. Ag. 1,4 + 0,5 T	24	38 700 5 500 28 300 1 800 30 600	100 14 73 4,6 79
	Bact. coli Σ, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag. M. Ag. 1,0 M. Ag. 1,0 + 0,5 T M. Ag. 1,4 M. Ag. 1,4 + 0,5 T	24	84 600 0 0 0 0	100 0 0 0 0
6	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag. M. Ag. 1,0 M. Ag. 1,0 + 0,5 T	24	2 850 530 1 930	100 18 68

Versuch Nr.	Art und Alter der zum Versprühen benutzten Kultur	Art des benutzten Nährbodens	Zählung nach Stunden	Keimzahl in 1 ccm	Ernte, auf N.-Ag. berechnet beträgt — %
7	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag.	24	101 500	100
		M. Ag. 0,9		470	0,5
		M. Ag. 0,9 + 0,5 T.		1 480	1,5
		M. Ag. 1,0		70	0,07
		M. Ag. 1,0 + 0,5 T.		1 750	1,7
		M. Ag. 1,0 + 1,0 T.		9 840	9,6
	Bact. coli Σ, Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag.	24	69 700	100
		M. Ag. 0,9		0	0
		M. Ag. 0,9 + 0,5 T.		524	0,75
		M. Ag. 1,0		0	0
		M. Ag. 1,0 + 0,5 T.		0	0
		M. Ag. 1,0 + 1,0 T.		26 100	37

Aus der Zusammenstellung ergibt sich, daß für den benutzten Colistamm schon 0,5 ccm der 0,2%igen Malachitgrünlösung auf 100 ccm Agar genügten, um 24 Stunden lang jede Entwicklung zu verhindern, daß aber bei einem Zusatz von 0,5% taurocholsaurem Natrium, um die gleichen Wirkungen zu erreichen, der Malachitgrüngehalt verdoppelt werden mußte. Auf diesem Nährboden (M. Ag. 1,0 + 0,5 T.) waren die Typhuskolonien nach 24 Stunden sehr kräftig entwickelt, allerdings in geringerer Zahl als auf dem „Nutrose-Agar" desselben Versuchs. Bei gleichzeitiger, vollkommener Entwicklungshemmung der Colikeime ergab Bact. typhi St. Coblenz auf dem Malachitgrünagar eine Ernte von nur 14% (Versuch Nr. 1), auf dem Bact. coli hemmenden Gallensalz-Agar (Versuch Nr. 3) dagegen eine solche von 45% der Aussaat. In den verschiedenen Versuchen schwanken allerdings, trotz Verwendung des gleichen Agars, die Ernteergebnisse bedeutend, doch tritt die Begünstigung durch das Gallensalz in allen Fällen, auch bei höherem Malachitgrüngehalt (vergl. Tabelle I, Versuch Nr. 4 und 5) deutlich zutage. Durch Erhöhung des Gehaltes an Natriumtaurocholat auf 1% wurde die vollkommene Hemmung des Bact. coli, die auf dem sonst gleichen Agar mit nur 0,5% des gallensauren Salzes erzielt wurde, aufgehoben und 37% der ausgesäten Keime gelangten zur Entwicklung (vergl. Tabelle I, Versuch Nr. 7). Von Typhuskeimen wuchsen aber infolge der gleichen Erhöhung nur 5½ mal soviel zu Kolonien aus. Es erschien also aussichtslos, durch Steigerung des Gallensalzgehaltes eine Verbesserung zu erreichen, da hierdurch das Verhältnis der sich entwickelnden Colikeime zu dem der Typhusbazillen zu Ungunsten der letzteren verschoben wurde.

Um festzustellen, wie sich die Nährböden, die sich bei den bisherigen Versuchen am vorteilhaftesten erwiesen hatten (M. Ag. 1,0 + 0,5 T. und M. Ag. 1,4 + 0,5 T.), gegenüber anderen Colistämmen bewähren würden, gelangte bei dem in nachstehender Tabelle II wiedergegebenen Versuch Nr. 8 neben Bact. typhi St. Coblenz noch Spreewasser, das stark mit Bact. coli verschmutzt ist und außerdem Paratyphus B. zur Aussaat.

Über das Verhalten des Typhusbazillus in diesem Versuch ist nichts Neues zu sagen, interessant ist es aber, daß die entwicklungshemmende Wirkung des Malachitgrüns auf die Wasserkeime bei dieser Zusammensetzung des Agars durch das Natriumtaurocholat wenig beeinflußt, der gegen Malachitgrün ziemlich unempfindliche Paratyphus B.-Bazillus dagegen durch dasselbe Salz stark begünstigt wird.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Art und Alter der zum Versprühen benutzten Kultur	Art des benutzten Nährboden	Zählung nach Stunden	Keimzahl in 1 ccm	Ernte, auf N. Ag. berechnet beträgt — %
	Bact. typhi Coblenz, Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag.		43 800	100
		M. Ag. 1,0		3 100	7
		M. Ag. 1,0 + 0,5 T.	24	29 700	68
		M. Ag. 1,4		38	0,08
		M. Ag. 1,4 + 0,5 T.		27 900	63
	B. paratyphi B., Agarkultur, 48 Std. bei 17°	N. Ag.		173 200	100
		M. Ag. 1,0		103 800	60
8		M. Ag. 1,0 + 0,5 T.	24	170 400	98
		M. Ag. 1,4		80 000	46
		M. Ag. 1,4 + 0,5 T.		140 900	81
	Spreewasser	N. Ag.		30 200	100
		M. Ag. 1,0		117	0,4
		M. Ag. 1,0 + 0,5 T.	24	117	0,4
		M. Ag. 1,4		58	0,2
		M. Ag. 1,4 + 0,5 T.		117	0,4

Da nach Löffler[1]) aber 1,5% einer 0,2%igen Lösung von Malachitgrün im allgemeinen erforderlich ist, um kräftige Colistämme am Wachstum zu verhindern, während bei gleichzeitigem Gallezusatz 1,9% benötigt werden, bei einem so hohen Malachitgrüngehalt jedoch das Wachstum von Bact. typhi, St. Coblenz nur noch sehr gering war, so mußten, um die praktische Brauchbarkeit des Natriumtaurocholats nachzuweisen, noch Versuche mit einer gegen Malachitgrün widerstandsfähigeren Typhuskultur gemacht werden. Im Typhusstamm P. wurde eine geeignete Kultur gefunden, die nun zunächst mit einem frisch aus Menschenkot gezüchteten Bact. coli St. *x*, welcher bei Prüfung auf die bereits oben angegebene Weise das Verhalten einer typischen Colikultur zeigte, zu vergleichenden Versuchen benutzt wurde. Die Colikultur wurde durch Zusatz von 1,5% einer 0,2%igen Malachitgrünlösung zum Nährboden gerade in der Entwicklung gehemmt, wuchs aber noch kräftig bei einem Zusatz von 1,9% der Malachitgrünlösung und gleichzeitigem Natriumtaurocholatgehalt des Nährbodens von 0,5%. Da eine weitere Steigerung des Malachitgrüngehaltes nicht für wünschenswert erachtet wurde, mußte durch Verminderung des Gehaltes an Gallensalz die Zurückhaltung des Bact. coli erstrebt werden.

Durch Vorversuche wurde ermittelt, daß sich bei einem Gehalt des Nährbodens

[1]) A. a. O.

von 0,2 % taurocholsaurem Natrium nach 24 Stunden noch keine Colikolonie entwickelt hatte, während Bact. typhi St. P. in der gleichen Zeit zu üppigen Kolonien ausgewachsen war. Die quantitativen Versuche, in denen die Verteilung der abgemessenen Bakterienaufschwemmung auf den Oberflächenplatten mit Hilfe des Drigalskispatels erzielt wurde, sind in Tabelle III zusammengestellt[1]).

Tabelle III.

Versuch Nr.	Zum Versuch wurde benutzt	Art des verwendeten Nährbodens	Zählung nach Stunden	Keimzahl in 1 ccm	Ernte beträgt — %
9	Bact. typhi St. P., Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag.	24	6 760	100
		M. Ag. 1,5		200	2,9
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		4 680	69
		M. Ag. 1,9 + 0,3 T.		5 800	85
	Bact. coli St. x, Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag.	24	6 800	100
		M. Ag. 1,5		0	0
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		0	0
		M. Ag. 1,9 + 0,3 T.		6 150	90
10 a	Bact. typhi St. P., Agarkultur, 24 Std. bei 37°	N. Ag.	24	8 100	100
		M. Ag. 1,5		0	0
		M. Ag. 1,9 + 0,1 T.		300	3,7
		M. Ag. 1,9 + 0,15 T.		1 750	22
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		2 950	36
		M. Ag. 1,5	48	350	4,3
		M. Ag. 1,9 + 0,1 T.		2 300	28
		M. Ag. 1,9 + 0,15 T.		3 900	48
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		4 100	50
10 b	Spreewasser, durch Watte filtriert	N. Ag.	24	88 300	100
		M. Ag. 1,5		590	0,67
		M. Ag. 1,9 + 0,1 T.		10	0,011
		M. Ag. 1,9 + 0,15 T.		10	0,011
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		40	0,045
		M. Ag. 1,5	48	1 480	1,67
		M. Ag. 1,9 + 0,1 T.		10	0,011
		M. Ag. 1,9 + 0,15 T.		10	0,011
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		40	0,045
10 c	Kot-Aufschwemmung, durch Watte filtriert	N. Ag.	24	15 713 000	100
		M. Ag. 1,5		430	0,003
		M. Ag. 1,9 + 0,1 T.		260	0,002
		M. Ag. 1,9 + 0,15 T.		800	0,005
		M. Ag. 1,9 + 0,2 T.		400	0,003
		M. Ag. 1,5	48	530	0,003
		M. Ag. 1,9 + 0,1 T.		600	0,004

[1] Bei Kontrollversuchen ergab die Zählung der Gußplatten und der mittels Drigalskispatels ausgestrichenen Oberflächenplatten die gleichen Resultate. Die Angabe **Schindlers** (a. a. O.), daß auf der 2. Platte, auf welcher die dem Spatel anhaftenden Keime abgestrichen werden, sich nur noch vereinzelte Kolonien entwickeln, bestätigte sich.

Digitized by Google

Während auf dem Malachitgrünagar, der die zur Hemmung von Bact. coli erforderliche Menge Malachitgrün enthielt, nach 24 Std. nur etwa 3% der Typhusaussaat zu sichtbaren Kolonien herangewachsen waren, betrug die Ernte bei Zusatz von 0,2% des Gallensalzes und gleichzeitiger Erhöhung des Gehaltes von Malachitgrün auf 1,9% im Durchschnitt aus Versuch Nr. 9 und 10 a 52%, also das 17 fache.

Der Versuch Nr. 9 zeigt auch, daß schon durch die Steigerung des Taurocholatgehaltes um nur 0,1% die hemmende Wirkung auf Bact. coli fast vollkommen aufgehoben wird, so daß demnach bei Verwendung von 1,9% einer 0,2%igen Malachitgrünlösung nur Natriumtaurocholatmengen bis 0,2% in Frage kämen.

Im Versuch Nr. 10 b und c der Tabelle III ist dann schließlich noch das Wachstum der in Spreewasser und einer Aufschwemmung von frischem Menschenkot enthaltenen Keime auf Nährböden mit einem Gehalt von 1,9% Malachitgrünlösung und 0,1, 0,15 und 0,2% taurocholsaurem Natrium geprüft worden.

Von den Spreewasserkeimen sind auf dem Agar mit einem Gehalt von 1,5% Malachitgrünlösung nach 24 Stunden 15 bis 59 mal mehr Keime zu Kolonien ausgewachsen als auf den Gallensalznährböden. Nach 48 Stunden verschiebt sich dieses Verhältnis sogar noch weiter zu Gunsten des Gallensalzagars. Gegenüber den in der Kotaufschwemmung enthaltenen Keimen scheint ein Unterschied zwischen dem Grünagar ohne und mit Natriumtaurocholat nicht zu bestehen. Vergleicht man nun hiermit die mit Bact. typhi St. P. erhaltenen Zahlen, so sprechen sie dafür, daß geringe (0,1—0,2%) Mengen von taurocholsaurem Natrium mit Vorteil dem Löfflerschen Malachitgrünagar zugesetzt werden können, besonders, wenn es sich um die Isolierung des Typhuserregers aus Wasser handelt. Allerdings müssen erst noch ausgedehntere Versuche mit einer größeren Zahl von Typhus[1])- und Colistämmen die allgemeine Brauchbarkeit des angegebenen Zusatzes bestätigen.

Es möge hier noch bemerkt werden, daß Agglutinationsproben mit den auf den Malachitgrün-Taurocholat-Agarnährböden von Versuch Nr. 9 und 10 gewachsenen Typhuskolonien unmittelbar positiv ausfielen. Ein Abschwemmen der Kolonien (Lentz-Tietz) und ein Neuausstreichen auf anderen Nährböden zwecks Identifizierung der Typhuskeime mittels spezifischen Serums konnte also — wenigstens bei diesem Stamm — entbehrt werden.

Ein Vergleich des Natriumtaurocholat-Malachitgrün-Agars mit dem Gallen-Malachitgrün-Agar Löfflers wurde nicht vorgenommen, weil wenig Aussicht vorhanden war, bei der wechselnden Zusammensetzung der Gallen einen für vergleichende Versuche brauchbaren Agar zu erhalten. Da aber nach Angaben von Werbitzki[2]) auf diesem Agar, selbst bei Verwendung sehr malachitgrünresistenter Typhusstämme, nicht mehr wie 14—20% der Aussaat geerntet werden, wird durch die obigen Versuche sehr wahrscheinlich gemacht, daß der Zusatz der Gallenflüssigkeit besser durch einen Zusatz von taurocholsaurem Natrium ersetzt werden kann.

---

[1]) Mit einem frisch aus Fäces isolierten Typhusstamm nach Abschluß der Arbeit angestellte Versuche bestätigten die mit Bact. typhi St. P. erhaltenen Ergebnisse.

[2]) Untersuchungen über den diagnostischen Wert einiger Nährböden für den Nachweis von Typhusbazillen in Fäces. Archiv f. Hyg. 1909, Bd. 69, S. 71.

Schlußfolgerungen.

1. Durch Zusatz von Natrium taurocholicum zum Löfflerschen Malachitgrünagar ist in den geschilderten Versuchen eine weitgehende Begünstigung der Typhusbazillen bei gleichzeitiger starker Wachstumshemmung aller übrigen im Wasser und Kot sich vorfindenden Begleitbakterien erzielt worden. Die ausgesäten Typhuskeime entwickeln sich bedeutend schneller und in viel größerer Zahl zu makroskopisch sichtbaren Kolonien als auf einem Grünagar ohne diesen Zusatz. Hierdurch wird die Aussicht auf das Gelingen des kulturellen Typhusnachweises auch bei Gegenwart nur schwach wachsender und gegen Malachitgrün sehr empfindlicher Typhuskeime erheblich vergrößert.

2. Dem Natrium taurocholicum gebührt gegenüber der Galle, obwohl die mit ihrer Benutzung verbundenen Vorteile vielleicht im wesentlichen die gleichen sind, der Vorzug, da es immer vorrätig gehalten, ohne weiteres dem Nährboden zugesetzt werden kann und infolge seiner gleichmäßigen Beschaffenheit auch eine gleichmäßigere Wirksamkeit des Nährbodens verbürgt.

Die Arbeit wurde im Hygienischen Laboratorium des Kaiserl. Gesundheitsamtes ausgeführt.

Berlin, im Oktober 1909.

Ende des 2. Heftes.
Abgeschlossen am 23. Dezember 1909.

Bericht über die Ergebnisse der 7. biologischen Untersuchung des Oberrheins auf der Strecke Basel—Mainz (vom 21. Januar bis 4. Februar 1908).

Von

Professor **Dr. R. Lauterborn.**

Die 7. biologische Untersuchung des Oberrheins war insofern von Interesse, als sie einen Einblick gewährte, wie sich zur eigentlichen Winterszeit das Bild der Verunreinigung und der Selbstreinigung des Stromes gestaltet. Die Wasserverhältnisse waren im allgemeinen als ziemlich günstig zu bezeichnen. Im oberen Teil der Strecke blieb infolge der Frostperiode der Pegelstand sogar noch unter dem gewiß niederen des November 1907. Dagegen trat unterhalb Kehl eine ziemlich starke Anschwellung des Rheins ein, die weiter abwärts langsam wieder abflaute.

Speziellere Nachweise nach dieser Richtung hin ergibt folgende Tabelle der Pegelstände des Oberrheins (in cm) vom 20. Januar bis 4. Februar 1908:

	20. 1.	21. 1.	22. 1.	23. 1.	24. 1.	25. 1.	26. 1.	27. 1.	28. 1.	29. 1.	30. 1.	31. 1.	1. 2.	2. 2.	3. 2.	4. 2.
Hüningen .	85	85	85	85	82	82	76	80	130	200	148	127	118	113	109	106
Breisach . .	148	150	146	145	144	143	148	143	162	258	200	180	171	168	161	159
Kehl . . .	126	128	128	130	128	125	130	118	142	241	221	193	177	175	160	157
Maxau . . .	275	273	273	273	272	269	268	267	302	343	400	356	336	325	307	308
Mannheim .	178	175	178	177	174	173	170	170	186	291	328	316	275	252	239	224
Worms . .	– 81	– 83	– 83	– 83	– 84	86	– 89	– 91	– 85	+ 1	+ 41	+ 58	+ 19	– 8	– 26	– 36
Mainz . . .	– 19	– 18	– 20	– 20	– 21	– 20	– 22	– 22	– 18	+ 27	+ 84	+ 103	+ 116	+ 83	+ 60	+ 42

I. Rheinstrecke Hüningen-Neuenburg (21. Januar 1908).

Rheinbrücke Hüningen.

Pegel am 21. Januar 85 cm (am 20. ebenso). Temperatur des Wassers + 3,4° C, der Luft + 2° C.

a) Plankton.

Das eigentliche Plankton erwies sich als äußerst arm an Arten und besonders an Individuen. Es fanden sich — am rechten Ufer am spärlichsten, gegen die Mitte zu und links etwas reichlicher — folgende Formen:

Cyanophyceen:	Oscillatoria rubescens ziemlich häufig.
Diatomeen:	Asterionella gracillima einzeln,
	Fragilaria crotonensis sehr einzeln,
	Synedra delicatissima sehr einzeln,
	Tabellaria fenestrata var. asterionelloides sehr einzeln,
	Melosira spec.[1]) einzeln,
	Stephanodiscus astraea einzeln,
	Cyclotella bodanica sehr einzeln.
Flagellaten:	Ceratium hirundinella sehr einzeln (Panzer).
Rotatorien:	Polyarthra platyptera sehr einzeln.

b) Abwässer von Basel.

Wie mir von kollegialer Seite mitgeteilt wurde, werden die Abwässer von Groß-Basel (links des Rheins) ungeklärt dem Rheine zugeführt und zwar durch eine Röhrenleitung gegen die Mitte des Stromes zu, während die Abwässer von Klein-Basel (rechts des Rheins) zusammen mit denjenigen der badischen Stadt Lörrach durch die sog. Teich-Wiese in den Rhein einfallen.

Bei der Schiffbrücke Hüningen ergaben sich hierüber folgende Befunde:

Rechte Stromseite. Wasser stark getrübt mit vereinzelten treibenden Fäkalbrocken. Sichttiefe 3 m vom Ufer entfernt 40 cm. Die Farbe des Schmutzstreifens wechselt sehr beträchtlich: gegen 9 Uhr vormittags erscheint das Wasser — angeblich durch eine chemische Fabrik oberhalb der Brücke — rot gefärbt und fluoresziert stark. Der Rückstand im Planktonnetz ist teils blau teils gelb (durch Pikrinsäure?) gefärbt. Abwasserreste sind sehr zahlreich, vor allem gelbe Muskelfasern, ausgelaugte Kartoffelzellen, klumpige Bakterien-Zoogloeen, Sphaerotilus-Flocken, Pilzmycelien, Zellulosefasern, Pflanzenreste usw.

Am rechten Ufer erscheinen die Steine der Böschung dicht bedeckt mit mehreren Zentimeter langen Fusarium-ähnlichen Pilzwucherungen. Dieselben sind stark mit bläulich gefärbtem Schmutz inkrustiert und beherbergen zahlreiche Abwasserinfusorien wie Chilodon cucullulus, Glaucoma scintillans, Aspidisca lynceus, Euplotes patella. Von Rhizopoden fand sich Diplophrys Archeri, von Insekten Chironomus-Larven, von Mollusken Gulnaria ovata.

Eine ähnliche Pilzvegetation wie die Ufersteine zeigen auch die Pontons der Schiffbrücke, soweit sie vom Abwasserstrom bespült werden; besonders dicht sind die hier wachsenden Wassermoose damit behangen. Zwischen dem Gewirre der Pilzfäden haben sich recht beträchtliche Mengen von Schlamm niedergeschlagen, der durch die Anilinfarben der Abwässer blau gefärbt erscheint. Auch hier sind die oben aufgezählten Abwasser-Infusorien sehr zahlreich.

---

[1]) Wahrscheinlich identisch mit der von O. Müller als Subspezies von Mel. islandica betrachteten Mel. helvetica O. M. Die Art stammt aus dem Zürcher See und ist von dort genau wie Oscillatoria rubescens und Tabellaria fenestrata var. asterionelloides in den Rhein eingeschwemmt worden. Ich beobachtete sie hier etwa seit 1906.

Mitte des Stromes. Obwohl der Rhein hier keine deutliche Schmutzfärbung aufweist, sind Abwasserreste im Plankton dennoch recht zahlreich nachzuweisen, so besonders Zellulosefasern, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel, gelbe Muskelfasern und ähnliches.

Linke Stromseite. Das Wasser erscheint hier etwas getrübt und erweist sich als sehr reich an Resten von Haus- und Fäkalabwässern, darunter auch große Bakterienzoogloeen, Fettklümpchen usw. An den Pontons der Schiffbrücke fehlen die Fusariumartigen Pilzmycelien, wie sie am rechten Ufer so üppig ausgebildet waren, dafür ist aber der ziemlich kurze Besatz von Cladophora glomerata pelzartig dicht mit Rasen von Cladothrix dichotoma überwuchert, die mit gelblichem Rheinschlick und Abwasserschmutz inkrustiert sind. Von Diatomeen finden sich hier — neben einer Anzahl aufgefangener Planktonformen — besonders Cocconeis pediculus, Melosira varians, kleine Synedren, dann Vorticellen, Aspidisca lynceus, Colurus bicuspidatus, Chaetogaster diaphanus, Chironomuslarven.

Auf der nun folgenden Talfahrt nach Neuenburg wurden folgende Befunde notiert:

1. Rheinkilometer 1,8 (badisch). Oberfläche der Ufersteine sowie Rasen der Wassermoose mit kurzen Räschen von Sphaerotilus und Cladothrix bewachsen und mit grauem Abwasserschlamm überzogen. Von Infusorien Glaucoma scintillans, Cyclidium glaucoma, Vorticella und Carchesium in schimmelartigen Kolonien an den Moosen. Von Diatomeen Diatoma vulgare, Synedra radians, Cymbella maculata ziemlich häufig. Die Schnecken sind durch Ancylus fluviatilis vertreten.

2. Rheinkilometer 5. Rückstand im Planktonnetz schwarzgrau gefärbt. Reichliche Abwasserreste: kleine Sphaerotilusflocken, viele Zellulosefasern, Fettklumpen, gelbe Muskelfasern usw. Steine am Ufer noch mit grauem Abwasserschlick bedeckt, mit Sphaerotilusräschen, Cladothrix, Cyclidium glaucoma, Carchesium usw. wie weiter oben.

Rheinkilometer 10. Einzelne treibende Fäkalbrocken. Rückstand im Planktonnetz von grauer Farbe, in seiner Zusammensetzung kaum von demjenigen bei Km. 5 verschieden. Ufersteine rechts mit schlickbedeckten Pilzräschen und Abwasserinfusorien wie Trochilia palustris, Glaucoma scintillans, Lionotus fasciola, Enchelys farcimen, Aspidisca lynceus usw.

Rheinkilometer 16,3 (Gegend von Rheinweiler). Rückstand des Planktonnetzes immer noch grau, qualitative Zusammensetzung kaum von derjenigen der vorhergehenden Stationen verschieden, immer noch mit sehr vielen Zellulosefasern, ausgelaugten Stärkezellen der Kartoffel, gelben Muskelfasern usw. Steine des Ufers neben niedrigen Pilzräschen (meist Cladothrix) mit zahlreichen kleinen Amoeben und den bereits aufgezählten Infusorien, auch mit braunen Diatomeenpolstern, vorherrschend aus Gomphonema olivaceum mit Diatoma bestehend. Von Schnecken Gulnaria ovata. Ähnliche Befunde zeigte auch das linke elsässische Ufer bei Km. 15: auch hier waren die verschlammten Pilzräschen mit ihren charakteristischen Bewohnern noch leicht nachweisbar.

Rheinkilometer 20. Plankton in seiner Zusammensetzung dem von Km. 15 ganz ähnlich. Am Ufer Räschen von Cladophora glomerata, braun gefärbt durch Gomphonema olivaceum, Diatoma vulgare, Cymbella usw. Der graue Abwasserschlick auf den Steinen zwischen den Pflanzen, der bisher überall beobachtet wurde, erscheint sehr beträchtlich reduziert.

Rheinkilometer 25 und 28. Rückstand im Planktonnetz mehr gelbgrau, wie bisher sehr arm an mineralischen Flittern, Sandkörnchen usw., zum größten Teil aus vegetabilischen Resten bestehend. Von Basel her noch sehr viele Zellulosefasern; auch Stärkezellen der Kartoffel sowie selbst gelbe Muskelfasern, Fettklümpchen noch vertreten.

Das Gesamtbild der Verunreinigung auf der Strecke Basel-Neuenburg hat nach allem große Ähnlichkeit mit demjenigen vom November 1907: auch dieses Mal ein auffällig langes Persistieren direkt nachweisbarer Abwasserreste im offenen Strome. Daß aber für diese selbst mit 30 Kilometern unterhalb Basel noch nicht die unterste Grenze des Vorkommens erreicht war, wird der nächste Tag lehren.

Die Ursache dieser recht mangelhaften Sedimentierung habe ich bereits in meinem Bericht über die Ergebnisse der Untersuchung vom November 1907 darzulegen versucht. Sie liegt vor allem in der durch den niederen Pegelstand bedingten Armut des Stromes an suspendierten festen Partikeln, welche die Detritierung und Sedimentierung der Abwasserreste so sehr fördern. Der Rhein erschien völlig klar und grün. Weiter kam dieses Mal noch hinzu, daß die stilleren Hinterwasser der Kiesbänke, welche, wie früher gezeigt wurde, neben den Altrheinen Stätten einer ausgiebigen Sedimentierung darstellen, fast alle bis zum Grunde gefroren waren.

II. Rheinstrecke Neuenburg—Breisach (22. Januar 1908).

Pegel bei Neuenburg am 22. Januar 42 cm (am 21. ebenso), Temperatur des Wassers $+ 2{,}1^{0}$ C.

Das morgens nach 8 Uhr bei der Neuenburger Schiffbrücke im Talweg des Rheins (elsässisches Ufer) gefischte Plankton erschien qualitativ und quantitativ etwas reichlicher als dasjenige von Hüningen. Zu den daselbst aufgezählten Organismen gesellten sich hier noch zwei Rädertiere, nämlich Notholca longispina und Anuraea cochlearis macracantha. Dazu Bodenformen, wie Bruchstücke von Hydrurus foetidus und zahlreiche Diatomeen, besonders kleine Naviculeen, Synedren, Diatoma vulgare, Achnanthes usw., Äste von Cladophora mit Pilzfäden dicht besetzt, Vorticellenköpfe, Carchesium-Kolonien usw. Reste der Baseler Abwässer waren selbst in dieser Entfernung von der Stadt — rund 32 Kilometer! — noch deutlich nachweisbar, besonders in Gestalt ausgelaugter Stärkezellen der Kartoffel, vieler Zellulosefasern und vereinzelter gelber Muskelfasern. Daß diese Reste nicht mehr so zahlreich waren als bei Rheinkilometer 28, dürfte in erster Linie durch die frühe Stunde der Probeentnahme bedingt sein.

Die Steine am Ufer waren weithin mit den schlüpfrigen braunen Polstern von Gomphonema olivaceum bekleidet, welche Diatomee am ganzen Oberrhein ihre Massen-

entfaltung während der kalten Jahreszeit hat. Die Unterseite der Steine trug schimmelartige Kolonien von Carchesium, deren Stiele von dichtgedrängten Cladothrix-Räschen wie mit einem Pelz bekleidet waren.

Der Grund des Rheins erschien auf dieser Strecke überall mit faust- bis kopfgroßem Geschiebe bedeckt. Das im Talweg des Stromes in etwa 2—2,5 m Tiefe liegende Gestein ist durch die fortwährende Bewegung an seiner Oberfläche völlig glatt gescheuert und hier ohne organisches Leben. Nur in den feinen Sprüngen und Ritzen kann sich ein kümmerliches Leben entfalten. Es fanden sich an solchen geschützten Stellen Zoogloea-artige Verbände von Bakterien und feinsten Pilzfäden, weiter kleinste Synedren, Gomphonemen und eine auffallend kurze Form von Diatoma vulgare, sowie schließlich noch Amoeben.

Von den Altwassern des Rheins auf dieser Strecke wurde der Altrhein Karpfenhod untersucht, dessen Mündung bei Rheinkilometer 49 liegt. Nur der untere Teil des Gewässers war zugänglich, der obere war, so weit er nicht trocken lag, zugefroren. Nicht weit von der Mündung förderte das Schleppnetz aus 2,5—3 m Tiefe einen schwarzgrauen Schlick zutage, der beim Sieben neben Tubificiden, Chironomus-Larven, Massen modernder Blattreste, Zellulosefasern usw. auch zahlreiche kleine Stücke von Zeitungspapier ergab, die noch von den Abwässern Basels stammen müssen. Dieses Papier wäre demnach erst nach einem Wassertransport von etwa 52 km zur Sedimentierung gelangt. Im ersten Augenblick mag dies vielleicht als außergewöhnlich große Entfernung erscheinen. Wenn wir uns aber die oben mitgeteilten Befunde von Rheinkilometer 28 vergegenwärtigen und in Betracht ziehen, daß die Stromgeschwindigkeit des Rheins auf dieser Strecke im Durchschnitt etwa 3 m in der Sekunde beträgt, so ist ein Transport von über 50 km nicht mehr besonders auffallend, zumal ja die Zellulosefasern im freien Wasser so gut wie gar nicht angegriffen werden.

III. Rheinstrecke Breisach—Kehl (23. und 24. Januar 1908).

Pegel des Rheins bei Breisach am 23. Januar 149 cm (am 22. Januar 150 cm). Temperatur des Wassers 2,3° C (am 24. bei Weisweil 2,8° C), der Luft — 2,3° C, am 24. — 3°. Starker Nebel und Rauhreif.

Bei der Schiffbrücke Breisach enthielt das Plankton neben ziemlich spärlichen Organismen des freien Wassers (darunter ein Exemplar der Seeform von Ceratium hirundinella) und Bodenformen wie Meridion circulare usw. von Abwasserresten noch ziemlich viele Zellulosefasern sowie ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel. Gelbe Muskelfasern kamen nicht mehr zur Beobachtung.

Die Strecke Breisach-Kehl ist, wie ich schon in meinem letztem Berichte hervorhob, biologisch von besonderem Interesse, da hier der korrigierte Rhein zu beiden Seiten noch von zahlreichen Armen und strömenden Rinnsalen begleitet wird, die Quellwasser führen, welches den diluvialen Schottermassen der Ebene entspringt. Wir haben hier die reinsten Gewässer der ganzen Rheinebene vor uns. Das Studium der hier lebenden Pflanzen- und Tierwelt ist darum nicht nur von allgemein biolo-

gischer und fischereilicher Bedeutung, sondern liefert auch wertvolle Vergleichspunkte für die Verhältnisse in den verschmutzten Strecken.

Bei der diesmaligen Untersuchung ergaben nun diese Gewässer im Gegensatz zum eigentlichen Rhein alle auffallend hohe Temperaturen, die in deren Quellnatur begründet sind. Während der Hauptrhein am 23. und 24. Januar eine Temperatur von nur 2,5—2,8° C aufwies, zeigte bei einer Lufttemperatur von —2,5—3° C beispielsweise der Altrhein bei Schönau an stillen Stellen 8° C, an strömenden 9°; das Wasser dampfte förmlich in der frischen Winterluft. Der Altrhein bei Weisweil sowie der sog. Innenrhein,. beides strömende Gewässer, ergaben 7° C, während in dem stagnierenden, 7—8 m tiefen Altrhein bei Ottenheim die Temperatur an der Oberfläche gar bis auf 9,2° C anstieg.

Daß Gewässer mit solchen Temperaturverhältnissen und einer solchen Reinheit und Klarheit auch eine charakteristische Tier- und Pflanzenwelt bergen müssen, ist einleuchtend. Forelle und Äsche sind hier Standfische. Für speziellere Schilderungen ist aber hier kaum die geeignete Stelle. Erwähnt sei nur, daß die Diatomeen hier eine ganz gewaltige Entfaltung zeigten. Im Altrhein Schönau war der Boden in 1—2 m Tiefe weithin mit einer schlüpfrigen gelbbraunen Decke überzogen, die sowohl den Schlickgrund als auch die Kiesel oft völlig verhüllte. Dieser Überzug bestand hauptsächlich aus Arten der Gattung Cymbella, von denen C. leptoceras und C. cymbiformis besonders häufig waren. Dazu kamen noch Achnanthes, Achnanthidium flexellum, Cyclotella Kützingiana und speziell an den Steinen Colletonema lacustre. Größere frei bewegliche Formen wie Pinnularia, Navicula, Pleurosigma traten mehr in den Hintergrund.

Ein reiches Pflanzenleben zeigte der Altrhein Weisweil in seinem strömenden Wasser. Besonders üppig gedieh hier Potamogeton densus, das in ausgedehnten Beständen blaugrün vom Grunde heraufleuchtete, weiter Pot. pectinatus, Elodea canadensis, Myriophyllum usw. In Tiefen von 2—2,5 m waren die Rasen von Nitella braun umhüllt von zahllosen Diatomeen wie Tabellaria flocculosa, Tab. fenestrata, Synedra capitata, Achnanthes microcephala, Cyclotella Kützingiana usw. Zoologisch interessant für diese Jahreszeit waren Laichmassen von Lymnaeus an den Pflanzen.

IV. Ill unterhalb Straßburg (25. Januar 1908).

Pegel der Ill am Rupprechtsauer Nadelwehr 150 cm, Temperatur des Wassers 2,6° C.

1. Ill beim Rupprechtsauer Nadelwehr. Das quantitativ nicht sehr reichliche Plankton — von brauner Farbe — enthält eine Anzahl typischer Rheinformen, die durch den Kanal von Gerstheim in den Fluß gelangt sind, wie Oscillatoria rubescens, Asterionella gracillima, Tabellaria fenestrata var. asterionelloides, Synedra delicatissima, Melosira spec. Dazu von Rädertieren noch Notholca acuminata — labis. Zahlreicher als diese Bewohner des freien Wassers erscheinen die Formen des Bodens, vor allem die Diatomeen (Synedra, Nitzschia) meist in leeren Panzern; von Melosira arenaria wurde eine Kette von 38 Zellen beobachtet. Die Rhizopoden sind durch

Cyphoderia margaritacea, die Algen durch Äste von Chantransia vertreten. Daneben noch zahlreiche Exkremente bodenbewohnender Schnecken und Würmer. Abwasserreste sind nur spärlich und nur in Gestalt von Zellulosefasern, Gemüseresten sowie ausgelaugten Stärkezellen der Kartoffel und Fettkügelchen nachzuweisen. Gelbe Muskelfasern fehlen völlig.

2. 250 m unterhalb der Mündung der Straßburger Abwässer. Der Rückstand im Planktonnetz ist von schwarzgrauer Farbe und sedimentiert wegen der zahlreichen Fasern, Fettkügelchen usw. nur schwer. Von Abwasserresten sind ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel besonders zahlreich, weniger gelbe Muskelfasern. Der Pilzbesatz bei der Ausmündung des Dolens erscheint etwas weniger üppiger als sonst.

3. Mündung des Schiltigheimer Dolens. Die ausströmenden Abwässer haben eine Temperatur von 13,2° C. Der Sphaerotilus-Besatz bei der Mündung des Dolens und unterhalb desselben ist sehr üppig.

4. Mündung des Bischheimer Dolens. Die Abwässer, quantitativ nicht sehr reichlich, stellen eine gelbgraue Schmutzbrühe dar, welche aus den Stärkefabriken des Ortes zahllose Stärkekörner enthält. Dieselben werden hauptsächlich in unmittelbarer Umgebung der Dolenmündung abgelagert und geben so Veranlassung zur Bildung einer recht ansehnlichen, ekelhaft stinkenden Schlammbank mit reichlicher Gasbildung. 100 m unterhalb der Dolenmündung konnten im freien Wasser des Flusses selbst mit dem feinsten Planktonnetz kaum noch Stärkekörner nachgewiesen werden.

5. 3,5 km unterhalb der Straßburger Abwässer. Der Boden des Flusses ist hier in 2—2,5 m Tiefe mit Kies bedeckt und mit flutenden Bandblättern von Sparaganium übergrünt. Die Pflanzen sind alle dicht mit langen Strähnen von Sphaerotilus und Leptomitus lacteus behangen, in deren Fadengewirre sich der feine Abwasserschlamm zu dichten Krusten niedergeschlagen hat. Von Tieren finden sich hier neben Nephelis vulgaris besonders Gammarus pulex und Asellus aquaticus, letzterer recht häufig.

6. 6,5 km unterhalb der Straßburger Abwässer. Im Plankton noch zahlreiche Abwasserreste aller Art sowie massenhaft schmutzinkrustierte Pilzflocken mit Trochilia palustris. Am Ufer ist der Besatz von Pilzrasen (Sphaerotilus und Leptomitus) noch äußerst üppig.

7. 7 km unterhalb der Straßburger Abwässer. Der schlammige Boden der Ill ist hier in etwa 2 m Tiefe weithin dicht mit Muscheln, in erster Line Sphaerium corneum gepflastert; von Schnecken ist Paludina fasciata sowie Planorbis corneus nicht selten. Asellus aquaticus haust hier in gewaltigen Mengen. Die Rhizome und gefalteten Wasserblätter von Nuphar luteum sind dicht mit Pilzrasen besetzt.

Beim Wanzenauer Wehr, etwa 7,5 km unterhalb der Straßburger Abwässer erscheinen nach dem Öffnen der Wehrschleuse die Ufer der Ill mit einem dicken schwarzgrauen Schlamm bedeckt. Büsche von Elodea canadensis sind alle mit Sphaerotilus-Rasen besetzt, während das lang flutende Batrachium fluitans ziemlich frei davon blieb. Der Fischpaß des Wehrs ist am Boden sowie an den Wänden dicht mit einem fast schwarzgrünen Moos (Cinclidotus aquaticus) bekleidet.

8. 8—10 km unterhalb der Straßburger Abwässer. Auf dieser Strecke ist der Boden der Ill mit Geröll und Geschiebe bedeckt; fast alle Steine mit Krusten von Hildenbrandia und Lithoderma überwuchert, die hier, trotzdem beide Algen sonst meist nur als Bewohner klarer Gebirgsbäche angegeben werden, zusammen mit Sphaerotilus-Rasen in dem noch stark getrübten Wasser ausgezeichnet gedeihen. In 2,5 m Tiefe sind viele Kiesel auch mit niederliegenden Räschen von Cladophora dicht übersponnen.

9. 12 km unterhalb der Straßburger Abwässer (400 m unterhalb der Wanzenauer Brücke). Im Plankton noch viele treibende Sphaerotilus-Flocken, Abwasserreste wie gelbe Muskelfasern, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel und ähnliches. Der Boden der Ill ist hier entlang des linken Ufers in 2,20 m Tiefe mit mächtigen tintenschwarzen Schlammablagerungen bedeckt, die beim Sieben zahlreiche Fetzen sedimentierten Zeitungspapiers ergeben. Von Tieren hier Gulnaria auricularia, Asellus aquaticus sowie Larven von Sialis lutaria.

10. Mündung der Ill (am 27. Januar 1908). Im Bereiche des Illwassers ergibt das Planktonnetz einen noch recht beträchtlichen Rückstand von dunkelgrauer Farbe, der noch zahlreiche Abwasserreste enthält. Ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel waren noch leicht nachzuweisen, dagegen keine gelben Muskelfasern mehr. Sphaerotilus war hier noch recht häufig, nicht nur treibend im freien Wasser, sondern auch festgewachsen an Steinen und Faschinen. Also wieder eine recht mangelhafte Selbstreinigung, genau wie im November 1907.

V. Rheinstrecke Kehl-Maxau (27. und 28. Januar 1908).

Pegel bei Kehl 121 cm am 26. 125 cm. Temp. des Wassers 2,8 ° C, der Luft + 3 ° C bei sturmartigem SW-Wind.

Das bei der Kehler Brücke im Talweg des Stromes gefischte Plankton war quantitativ und qualitativ reichlicher als dasjenige bei Hüningen. Oscillatoria rubescens erschien ziemlich zahlreich, daneben Melosira spec., Stephanodiscus astraea nicht selten. Von Tieren, die bei Hüningen fast vollständig gefehlt hatten, kamen hier vereinzelte Exemplare der Rädertiere Hudsonella pygmaea und Anuraea aculeata zur Beobachtung. Abwasserreste waren durch mikroskopische Sphaerotilus-Flöckchen, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel, Zellulosefasern sowie ganz vereinzelte Bakterien Zoogloeen vertreten. Sie dürften alle wohl noch von Basel stammen.

Schutter bei Kehl.

Die Schutter führt tief braunes Wasser mit einer Sichttiefe von 80 cm. Bei ihrer Mündung sind die Schlammablagerungen sowie die Sphaerotilus-Rasen wieder sehr stark entwickelt, ohne daß letztere aber die außerordentliche Üppigkeit vom November 1907 erreichen. Überall sind bei dem niederen Pegelstande die Steine des Ufers über der Wasserlinie mit vertrockneten fetzenartigen Häuten der alten Pilzrasen bedeckt. Die mikroskopische Untersuchung der stark inkrustierten Sphaerotilus-Rasen direkt oberhalb der Kinzigmündung ergab zahlreiche Abwasser-Infusorien, so vor

allem Trochilia palustris, Glaucoma scintillans, Aspidisca lynceus. Auch kleine Büsche von Cladophora wurden beobachtet, sowie an der Unterseite der Steine Asellus aquaticus.

Unterhalb der Mündung der Kinzig, die dieses Mal reichlicher Wasser führte als bei der 6. Untersuchung, setzte sich der Sphaerotilus-Besatz der Ufersteine fort, allerdings in etwas verminderter Üppigkeit. Bei bad. Kilometer 128,5—130 waren die Pilze noch ca. 8 cm lang. Zu ihnen traten hier wieder Diatomeen hinzu und zwar die gewöhnlichen Rheinformen, wie Diatoma vulgare, Melosira varians, kleine Synedren, Cymbellen usw. Auch das Tierleben wurde etwas reichlicher: neben Asellus aquaticus fanden sich Insektenlarven wie Hydropsyche und Perla; auch Planaria gonocephala wurde in einem Exemplar gefunden. Sphaerotilus ging noch weiter abwärts: noch bei Kilometer 130,1 waren seine Rasen fast fingerlang.

Am gegenüberliegenden elsässischen Ufer war von einem Pilzbesatz nichts zu beobachten. Die Steine erschienen hier an ihrer Oberfläche durch schlüpfrige Diatomeen-Wucherungen (Gomphonema olivaceum, Diatoma, Melosira usw.) ganz braun gefärbt; die Unterseite wimmelte von Gammarus pulex sowie Ephemeriden-Larven, Baëtis, Perla, Taeniopteryx nebulosa, Hydropsyche usw.

Bei der Schilderung der Ill ist hervorgehoben worden, daß der Fluß selbst noch bei seiner Mündung deutliche Anzeichen seiner hochgradigen Verschmutzung durch die Straßburger, Schiltigheimer und Bischheimer Abwässer aufwies. Von Interesse war es nun, daß Einwirkungen dieser Abwässer auch noch im freien Rhein nachgewiesen werden konnten, aber zwar nicht, wie man vielleicht erwarten könnte, am linken Ufer des Stromes unterhalb der Illmündung, sondern am rechten Ufer, gerade da, wo der vom elsässischen Ufer herüberziehende Talweg das badische Ufer trifft (Kilometer 137,5). An dieser Stelle, etwa 1200 m unterhalb der Illmündung, fanden sich an den Steinen dichte Pilzrasen (Cladothrix und Sphaerotilus, letztere seltener) Cladophora-Büsche mit einem Pelz von Sphaerotilus umhüllt, Bakterienkrusten usw., die alle direkt oberhalb fehlten.

Auch im Plankton machten sich diese Einwirkungen noch deutlich bemerkbar. So ergaben sich bei der Schiffbrücke Neufreistett-Gambsheim (etwa 3 km unterhalb der Illmündung) im Talweg des Rheins von Abwasserresten noch viele Zellulosefasern, ausgelaugte Stärkezellen, viele mikroskopische Pilzflocken (Cladothrix und Sphaerotilus). Dazu kamen noch von weiter oben her Schläuche von Hydrurus foetidus, Chantransia-Äste mit Pilzfäden, Ulothrix-Fäden, Diatomeen wie Eunotia arcus, Meridion circulare usw. sowie sehr viele Pflanzenreste aller Art.

Daß diese Reste sich im offenen Strome noch längere Zeit unverändert zu halten vermögen, zeigte eine Planktonprobe, die dem Rheine bei Söllingen, rund 20 km unterhalb der Illmündung entnommen wurde. Hier fanden sich noch alle die für Neufreistett-Gambsheim aufgezählten Reste ebenfalls vor, was übrigens mit den entsprechenden Befunden vom November 1907 sehr gut harmoniert.

Während der Fahrt nach Maxau begann der Rhein mehr und mehr anzuschwellen, wobei seine vorher grünliche Farbe in eine gelbbraune überging. Die dadurch bedingte reichliche Detritusführung kam schon in dem Planktonfang bei der

Schiffbrücke Neufreistett-Gambsheim zum Ausdruck. Oberhalb der Murgmündung betrug die Durchsichtigkeit des Rheins im Talweg 70 cm, im Bereich des Murgwassers, das Treibeis führte und über 300 m weit entlang des rechten Ufers sich scharf von dem des Stromes abhob, nur 50 cm.

VI. Rheinstrecke Maxau-Speyer (30. Januar 1908).

Pegel bei Maxau am 30. Januar: 408 cm; am 29. Januar 337. Temperatur des Wassers 3,2 ° C.

Während auf der bisher durchfahrenen Strecke die Stromverhältnisse noch günstige waren, änderte sich von Maxau ab das Bild, indem der Rhein hier vom 29. zum 30. Januar um 71 cm stieg. Daß dies speziell die Uferuntersuchungen beeinflussen mußte, liegt auf der Hand.

Das bei der Schiffbrücke Maxau im Talweg des Rheins gefischte Plankton enthielt neben sehr reichlichem mineralischem und pflanzlichem Detritus, Hydrurus-Schläuchen, Gomphonemen mit dicken Gallertstielen auch noch spärliche Abwasserreste wie mikroskopische Räschen von Sphaerotilus und Cladothrix, Zellulosefasern und ganz vereinzelte Bakterien-Zoogloeen, alle stark inkrustiert.

Verunreinigung der Alb.

Auf eine eingehende Untersuchung der Alb mußte dieses Mal verzichtet werden, da der Altrhein mit einer mehrere Millimeter dicken Eiskruste überzogen war. Dazwischen fanden sich noch vereinzelte größere schmutzige Schollen, Reste einer stärkeren Eisdecke, die aber bereits vor der Untersuchung abgetrieben war. Unter diesen Umständen konnten nur einige Stichproben gemacht werden.

Beim Jägersteg erschien das Wasser der Alb verhältnismäßig wenig getrübt und ziemlich frei von größeren treibenden Pilzfladen. Das Plankton — von schwarzgrauer Farbe — enthielt recht beträchtliche Mengen von Schmutz aller Art, zahlreiche kleine Räschen von Sphaerotilus und besonders Leptomitus lacteus, viele Bakterien-Zoogloeen, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel, Federn, Haare, Zweige von Carchesium Lachmanni-Kolonien, Paramaecium putrinum, Rotifer vulgaris usw. Gelbe Muskelfasern kamen nicht zur Beobachtung.

Die Balken der Brücke wiesen nur einen schwachen Pilzbesatz auf, da das Treibeis das Holzwerk gründlich abgescheuert hatte. Dagegen fanden sich an Reisig, angetriebenen Zweigen mehr in der Tiefe zahlreiche schmutzinkrustierte Pilzrasen, unter denen Leptomitus diesmal Sphaerotilus überwog. Abwasser-Infusorien wie Paramaecium, Glaucoma waren hier recht häufig.

2 Kilometer unterhalb des Jägerstegs fanden sich, zum Teil vereist, zahlreiche Schlammfladen, von zahlreicheren Bakterien-Zoogloeen, darunter Z. ramigera durchsetzt. Abwasser-Infusorien waren hier nur recht spärlich.

Unmittelbar oberhalb der Mündung war das Plankton in dem rückgestauten Wasser der Alb ganz minimal. Es fanden sich einige Rheinformen von Diatomeen, Bakterien-Zoogloeen (Z. ramigera) Äste von Carchesium Lachmanni, Paramaecium putrinum, Eier von Poduriden.

Eine biologische Beeinflussung des Rheins durch die Abwässer der Alb war bei dem herrschenden Pegelstande natürlich nicht zu konstatieren.

VII. Rheinstrecke Speyer-Ludwigshafen (31. Januar 1908).

Pegel bei Speyer am 31. Januar: 318 cm (am 30. 317 cm). Temperatur des Wassers + 2,8 ° C.

Der Rhein ist bei Speyer ziemlich stark getrübt, die Durchsichtigkeit beträgt bei der Schiffbrücke nur 30 cm. Das Plankton ist von gelbgrauer Farbe, sehr reich an mineralischem Detritus und enthält zahlreiche Zellulosefasern, die wohl in erster Linie von Maxau stammen dürften. Sonstige Abwasserreste wurden nicht beobachtet.

Speyerbach.

Das Wasser des Baches ist nur wenig getrübt (Durchsichtigkeit 60 cm), dunkelbraun und führt neben wenigen größeren Pilzflocken auch einige Fäkalbrocken ab. Das Plankton besteht zum größten Teil aus pflanzlichen Resten, vereinzelten Stärkezellen der Kartoffel usw. Die Einwirkung auf den Rhein ist eine ganz minimale.

Abwässer der Imprägnierungsanstalt.

Nach Aussage des Dammeisters soll beim Betrieb der Anstalt ein mehrere Meter breiter öliger Streifen sich entlang des Ufers weit zu Tal ziehen. Am heutigen Tage war hiervon nichts zu bemerken.

Altrhein beim Angelhof.

Der Altrhein Angelhof ist wie derjenige von Otterstadt zum größten Teile zugefroren. Nur bei der Mündung ist eine Strecke von etwa 200 Schritt Länge offen. Das Plankton war hier war quantitativ und qualitativ sehr gering und bestand zum größten Teil aus Diatomeen, besonders Stephanodiscus astraea, Melosira spec., dann Asterionella gracillima, Fragilaria crotonensis. Sonst noch Oscillatoria rubescens ziemlich häufig und vereinzelte Anureaea cochlearis.

Wie im November 1907 breiteten sich auch dieses Mal in dem stilleren Wasser bei der Mündung große schillernde Ölhäute an der Oberfläche aus, wenn man mit dem Ruder in den gelblichen Schlick des Bodens einstieß. Dieselbe Erscheinung zeigte sich, in schwächerem Maße allerdings, auch bei der Mündung des Altrheins Otterstadt, der etwa 9 km unterhalb der Imprägnierungsanstalt bei Speyer und etwa 4 km unterhalb des Angelhofer Altrheins liegt.

Rheinau-Hafen.

Im Gegensatz zu der auffallenden Planktonarmut, wie sie uns bisher nicht nur im strömenden Rhein sondern auch in dessen Altwassern, soweit dieselben zugänglich waren, entgegentrat, erwies sich das langgestreckte Becken des Rheinau-Hafens als ein Planktonreservoir von nicht gewöhnlicher Produktionskraft. Eine solche Arten- und Individuenzahl, wie sie hier die freien Wasserflächen belebte, wurden an keiner zweiten Stelle auf der ganzen Strecke von Basel bis Mainz dieses Mal auch nur annähernd erreicht.

Plankton des Rheinau-Hafens.

Cyanophyceen:	Oscillatoria rubescens häufig.
Diatomeen:	Asterionella gracillima massenhaft, überwiegend,
	Tabellaria fenestrata var. asterionelloides einzeln,
	Fragilaria crotonensis einzeln,
	Synedra delicatissima einzeln,
	Stephanodiscus astraea häufig,
	Melosira spec. einzeln.
Flagellaten:	Eudorina elegans einzeln,
	Glenodinium aciculiferum sehr häufig.
Infusorien:	Disematostoma Bütschlii einzeln,
	Codonella cratera einzeln.
Rotatorien:	Synchaeta pectinata nicht selten,
	Synchaeta tremula sehr häufig,
	Polyarthra platyptera nicht selten,
	Thriarthra longiseta einzeln,
	Brachionus pala einzeln,
	Anuraea cochlearis einzeln.

Unter den hier aufgezählten Organismen verdient die Dinoflagellate Glenodinium aciculiferum Lemmermann besondere Beachtung. Ich fand sie bisher nur in solchen Gewässern, die leicht verschmutzt sind, so z. B. in einem Teich bei Maudach und dann, besonders zahlreich, in einem abgeschlossenen teichartigen Altwasser des Rheins bei Neuenburg[1]). Das zeitliche Vorkommen der Flagellate ist nach meinen langjährigen Beobachtungen streng auf die kalte Jahreszeit beschränkt, also ähnlich wie bei Gymnodinium tenuissimum, dem oben erwähnten Disematostoma Bütschlii, Holophrya nigricans, den Rädertieren Rhinops vitrea, Triarthra mystacina usw. Daß es sich hierbei um eine allgemeine biologische Eigentümlichkeit der Art handelt, geht auch daraus hervor, daß Gl. aciculiferum selbst in Island am häufigsten von Februar bis März bei 1—1,5° Wassertemperatur gefunden wurde, von April bis Juli dagegen nur sehr selten (Ostenfeld).

VIII. Rheinstrecke Ludwigshafen—Mannheim—Worms (1. Februar 1908).

Pegel bei Mannheim am 1. Februar 275 cm, am 31. Januar 316 cm. Temperatur des Wassers 2,6° C, der Luft 0°.

Das Plankton des Rheins bei Ludwigshafen, oberhalb des Einlaufs der Abwässer, hatte eine große Ähnlichkeit mit dem am 31. Januar bei Speyer ge-

[1]) Dasselbe wird in der kälteren Jahreszeit durch eine Stockfischwässerei leicht verunreinigt, was dann in der Zusammensetzung des Planktons ganz deutlich in Erscheinung tritt, obwohl das Altwasser die Tiefe von 18 m erreicht. Das betreffende Gewässer ist somit das tiefste der ganzen Rheinebene. Es zeigt sehr interessante Temperaturverhältnisse, indem trotz seiner Kleinheit in einer je nach der Jahreszeit von 9—13 m wechselnden Tiefe eine sehr deutliche „Sprungschicht" ausgeprägt ist, die bisweilen 4° per Meter beträgt. Ich werde darüber an anderer Stelle ausführlicher berichten.

fischten. Es zeigt dies, daß die organischen Verunreinigungen der Strecke Speyer—Ludwigshafen, welche um diese Jahreszeit überhaupt in Betracht kommen, wie der Speyerbach, die Abwässer des Stengelhofes bei Rheinau, ihre Einwirkungen nur lokal und fast nur auf die Ufer äußern, die gewaltige Wassermasse des Stromes selbst dagegen nur ganz wenig zu beeinflussen vermögen. Es fanden sich von Abwasserresten hier Zellulosefasern, Pilzmycelien, inkrustierte Räschen von Spharotilus und Cladothrix usw. Von Planktonorganismen war eine Kette von Cyclotella melosiroides erwähnenswert, die aus dem Bodensee stammt; dazu noch abgestorbene Cladophora, Fäden von Ulothrix sowie Hydrurus.

Städtische Abwässer von Ludwigshafen.

Die Abwässer sind tief schwarz gefärbt, sehr stark getrübt und führen auch vereinzelte Fäkalbrocken mit sich. Während die Durchsichtigkeit des Rheins oberhalb der Dolenmündung 60 cm betrug, sank sie 10 m unterhalb derselben auf 10 cm, 100 m abwärts auf 30 cm und in 450 m Entfernung, da wo die städtischen Abwässer in den Farbenbächen der Anilinfabrik optisch verschwinden, 45 cm. Das Plankton war an dieser Stelle schwarzgrau gefärbt und äußerst reich an Abwasserresten aller Art, in denen Fett, Wollfasern, Getreidespelzen besonders häufig waren. Ein genaueres Verfolgen der Abwasserfauna und Flora speziell der Pilzvegetation entlang des Ufers war unmöglich, da das vorausgegangene Treibeis Steine, Bojen, Schiffe usw. abgescheuert hatte.

Abwässer der Anilinfabrik.

Die Abwässer der Anilin- und Sodafabrik färbten den Rhein weithin entlang des Ufers in einer Breite von 35—40 m tiefbraun. Die Ausdehnung der azoischen Strecke genau zu bestimmen, erwies sich als unmöglich wegen der sehr ungünstigen Wasserverhältnisse: war doch der Rhein nach längerem Tiefstand vom 27. bis zum 30. Januar um mehr als $1^1/_2$ m, von 170 auf 328 cm gestiegen. Mit Sicherheit ergab sich nur, daß bei dem im November 1907 festgestellten Endpunkt der azoischen Strecke, bei Kilometer 76 bayerisch, tierisches Leben dieses Mal nicht nur am Ufer sondern auch in 2 m Tiefe völlig fehlte, was also auf eine Erweiterung der azoischen Strecke hindeutet. Das Ufer war noch mehrere hundert Meter weiter ohne Leben.

Neckar oberhalb der Mündung.

Das Wasser des Neckar ist sehr stark getrübt und braungelb gefärbt; die Durchsichtigkeit beträgt nur 25 cm. Entlang des linken Ufers treiben zahlreiche Eisbrocken ab. Das Plankton, oberhalb des Verbindungskanals entnommen, hat eine braungelbe Farbe und ist sehr reich an organischem Detritus. Eigentliche Planktonorganismen fehlen völlig; von Bodenformen finden sich zahlreiche Diatomeenpanzer, weiter Vaucheria-Fäden, sowie Nematoden (Diplogaster rivalis, Tylenchus filiformis). Abwasserreste und zwar Fettkügelchen, gefärbte Woll- und Textilfasern, Haare, ausgelaugte Stärkezellen, Räschen von Sphaerotilus traten etwas mehr in Erscheinung als sonst.

Abwässer der Stadt Mannheim.

An der Stelle, wo die Mannheimer städtischen Abwässer durch eine Rohrleitung auf der Stromsohle ausmünden, war bei dem herrschenden Pegelstande nur wenig von den aufquellenden Schmutzwolken zu sehen. Dagegen ergab das Schleppnetz, daß der Kies am Boden des Rheins von der Abwassermündung an kilometerweit mit den üppigsten Sphaerotilus-Rasen bedeckt war, denen sich weiter abwärts auch Leptomitus lacteus, aber nur ziemlich spärlich, zugesellte. Die Pilzrasen erreichten bei der Mündung über Handlänge, in 1 km Entfernung noch Fingerlänge; sie waren alle dicht verfilzt, zottig und sehr stark mit Schlick inkrustiert. Von Tieren fanden sich etwa 100 m unterhalb der Mündung ziemlich zahlreiche Tubificiden (Limnodrilus), Chironomiden-Larven, Gammarus fluviatilis; 1 km weiter abwärts dazu schon wieder Larven von Taeniopteryx, Perla und Hydropsyche. Ein Beweis, daß die Sauerstoffzufuhr durch das ziemlich rasch strömende Wasser in dem großen Strome immer noch ausreichend ist, um an dieser so stark verschmutzten Stelle selbst den etwas empfindlicheren Formen wie den eben genannten Perliden-Larven noch die Existenz zu ermöglichen.

Das Plankton war 1 km unterhalb der Mündung von schwarzgrauer Farbe und enthielt hier noch Massen aller Reste von Haus und Fäkalabwässern. — In der Höhe der unteren Mündung des Floßhafens ergab ein Profil quer über den Strom folgendes:

Linkes Ufer: Wasser in einer Breite von etwa 40 m tief dunkelbraun gefärbt. Sichttiefe 45 cm, also noch soviel wie oberhalb der Einmündung der Abwässer der Anilinfabrik. Mitte des Stromes: Wasser mehr grau. Sichttiefe 55 cm. Rechtes Ufer: Wasser tiefbraun, noch fast reines Neckarwasser, das sich in einer Breite von etwa 80 m hier entlang des Ufers hinzieht. Sichttiefe etwa 10 m vom Ufer 25 cm (wie im Neckar selbst!), etwa 100 m vom Ufer 50 cm.

Frankenthaler Kanal.

Von einer Untersuchung des Kanals mußte abgesehen werden, da derselbe oberhalb der Schleuse zugefroren war. Unterhalb derselben, ganz nahe bei dem offenen Rhein, ergab das Planktonnetz fast gar keinen Rückstand: etwas organischer Detritus, einige Zellulosefasern, Zooide von Carchesium Lachmanni, sowie ein paar Paramaecium putrinum war alles.

Abwässer der Waldhoffabriken.

Die Waldhofabwässer sind im Rheine durch ihre tiefbraune Färbung, sowie reichliche Schaumbildung über 250 m entlang des Ufers direkt zu verfolgen. 10 m unterhalb ihrer Mündung beträgt die Temperatur des Wassers 11 °C, gegen 2,4 °C oberhalb; die Durchsichtigkeit ist nur 10 cm. Etwa 100 m abwärts war die Reaktion der Abwässer wieder alkalisch.

Die Trübung des Wassers ist bedingt durch ungeheure Massen von Zellulosefasern, die sich weithin am Ufer als grauer Schlamm an den Steinen usw. ablagern und von nun an alle Planktonproben weiter stromab erfüllen.

5 km unterhalb der Mündung der Waldhofabwässer. Im Plankton nahe dem rechten Ufer neben der grauen nur sehr locker sedimentierenden Masse der Zellulosefasern viele inkrustierte Sphaerotilus-Rasen sowie mehr vereinzelte ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel, die noch von Mannheim stammen. Auch einige kleine treibende Fäkalbrocken kommen wohl noch von daher. Auf der Sohle des Stromes sind hier rechts in einer Tiefe von 4—5 m die Kiesel dicht mit Sphaerotilus überwuchert. Die Rasen sind meist zottig-pinselförmig ausgebildet, die Fäden vielfach seilartig verflochten und alle stark mit gelbem Rheinschlick inkrustiert. Von Abwasser-Organismen war Trochilia palustris häufig, dann Chilodon cucullulus sowie Nematoden.

10 km unterhalb der Mündung der Waldhofabwässer. (Bad. Kilometer 273). Die Durchsichtigkeit des Wassers beträgt gegen das rechte Ufer hin 35 cm. Auch hier ist in einer Tiefe von 2—3 m der Kiesgrund des Stromes noch dicht mit Sphaerotilus bedeckt. Von der gröberen Fauna wurden hier Gammarus fluviatilis, Hydropsyche, sowie Chironomus-Larven gefunden.

IX. Rheinstrecke Worms-Oppenheim (1. und 3. Februar 1908).

Pegel bei Worms am 1. Februar + 19 cm, am 3. Februar — 26 cm. Temperatur des Wassers am 3. Februar + 2 ° C.

Biologisches Profil des Rheins oberhalb Worms.

Das biologische Profil des Rheins wurde noch am Nachmittag des 1. Februar und zwar oberhalb der Mündung des Gerbereigießens genommen.

Das eigentliche Plankton war hier wie auf der ganzen bisher befahrenen Strecke des offenen Rheins äußerst arm an Arten und Individuen. Aus diesem Grunde war es auch so gut wie unmöglich genauere Angaben über die Häufigkeitsgrade an den einzelnen Profilstellen zu machen. Das einzige, was nach dieser Richtung hin mit einiger Sicherheit festgestellt werden konnte war, daß auf der rechten Stromseite überhaupt fast keine eigentlichen Planktonorganismen in das Netz gerieten, was darauf hindeutet, daß diese Seite des Rheins hier biologisch noch völlig unter dem Einfluß des Neckarwassers sowie der Waldhofabwässer steht, was auch die Befunde an den Ufern sowie auf der Stromsohle bekunden.

Im einzelnen ergab sich folgendes:

Linkes Ufer. Sichttiefe 60 cm. Von Planktonorganismen vereinzelte Oscillatoria rubescens, Fragilaria crotonensis, Asterionella gracillima, Tabellaria fenestrata var. asterionelloides, Stephanodiscus astraea; je ein Exemplar von Pediastrum boryanum sowie Ceratium hirundinella. Von Pseudoplankton sehr viele Pflanzenreste, alle nur wenig detritiert, Boden-Diatomeen wie Rhoicosphenia curvata, Diatoma elongatum, Melosira varians; dann verschlickte Schläuche von Hydrurus foetidus, Bruchstücke von Carchesium und Epistylis. Von Abwasserresten ziemlich viel Zellulose-Fasern, Spaerotilus-Flocken, vereinzelte Pilzmycelien sowie ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel. Am Boden des Stromes und zwar an grobem Kies zerstreute Pilzrasen, einige Gammarus fluviatilis, Gulnaria ovata.

Mitte des Stromes. Sichttiefe 35 cm. Plankton ähnlich wie links. Vom Pseudoplankton sehr viele vegetabilische Reste, Boden-Diatomeen wie Diatoma vulgare, Melosira varians, Synedra ulna, Nitzschia palea usw.; dazu Ulothrix und Hydrurus, sowie Bruchstücke von Carchesium und Epistylis. Von Abwasserresten sehr viele Zellulosefasern, viele inkrustierte Räschen von Sphaerotilus und Cladothrix, Stärkezellen der Kartoffel. Vom Boden des Rheins brachte das Schleppnetz nur blanken feinen Kies herauf, der gar keine gröbere Fauna enthielt.

Rechtes Ufer. Sichttiefe 35 cm. Im freien Wasser fast gar keine eigentlichen Planktonorganismen. Pseudoplankton mit sehr zahlreichen, kaum detritierten Pflanzenresten, sowie mehr vereinzelten Bodenformen wie Meridion circulare, Hydrurus. Von Abwasserresten sehr beträchtliche Mengen von Zellulosefasern und inkrustierten Sphaerotilus-Flocken; im weitmaschigen Netze auch größere treibende Pilzrasen in 1—2 m Tiefe. Am Boden sind in einer Tiefe von 3 m die Kiesel dicht bedeckt mit schlickinkrustierten Rasen von Sphaerotilus und Cladothrix, die von zahllosen Trochilia palustris belebt werden[1]). Von der gröberen Fauna fanden sich hier Gammarus fluviatilis und Larven von Perla.

An allen Profilstellen zeigte der sehr reichliche Rückstand im Planktonnetz eine graugelbe Farbe. Er bestand zum weitaus größten Teil aus organischen Resten, die nur sehr wenig detritiert waren, weil die scharfkantigen mineralischen Flitter und Körnchen, die bei Mittel- und Hochwasser so zahlreich das Wasser erfüllen, diesmal mehr in den Hintergrund traten. Die beträchtliche Verschiedenheit der Sichttiefen — links 60 cm, Mitte und rechts nur 35 cm, beweist auf das deutlichste, daß sich der Einfluß des stark getrübten Neckars sowie der Waldhofabwässer bei Worms noch bis auf die halbe Strombreite geltend macht.

Abwässer des Gerbereigießens.

Diese Abwässer haben den ekelhaftesten Geruch von sämtlichen Abwässern des Oberrheins und übertreffen darin selbst die quantitativ doch so viel beträchtlicheren städtischen Effluvien von Straßburg, Mannheim, Ludwigshafen usw. Sie sind im Rhein als brauner Streifen etwa 200 m weit durch ihre Farbe und ihren Gestank direkt zu verfolgen, ungefähr bis zur Mündung des oberen Hafens, wo sie die Sichttiefe im Wasser noch von 60 cm auf 40 cm herabdrücken. Die Abwässer führen dem Rhein sehr beträchtliche Mengen von Haaren zu, die von nun ab kaum einer Planktonprobe bis nach Mainz hin mehr fehlen.

Städtische Abwässer von Worms.

Der aus dem Dolen in den Rhein stürzende Schmutzstrom ist von trüb grauer Farbe und führt einen zähen braunen Schaum mit sich, der zusammen mit dem weiter oben aus einem Maschinenschuppen auslaufenden Schmieröl einen recht unappetit-

[1]) Das Abwasser-Infusor Trochilia palustris ist einer der charakteristischen Bewohner der Sphaerotilus- und Cladothrix-Rasen. Wahrscheinlich dient der kräftige Griffel nahe dem Hinterende dazu, das Tier in den flutenden Pilzfäden zu verankern. Bemerkenswert ist jedenfalls, daß eine nah verwandte Form, Dysteria fluviatilis, die von Stein in klaren Gebirgsbächen, also auch in bewegtem Wasser gefunden wurde, ebenfalls diesen Griffel trägt.

lichen Anblick gewährt. Von den Abwasserresten waren gefärbte Woll- und Textilfasern, Haare, Bakterien-Zoogloeen, gelbe Muskelfasern, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel besonders zahlreich.

Der Schmutzstreifen ist am linken Ufer durch seine Färbung über 1 km weit direkt zu verfolgen; die Sichttiefe betrug unterhalb der Eisenbahnbrücke 75 cm, gegen 1 m oberhalb der Abwassermündung. Alle eben aufgezählten Reste waren hier noch in kaum verminderter Häufigkeit nachzuweisen; daß sie noch weiter abwärts im Strome dahintreiben — Bakterien-Zoogloeen, Stärkezellen der Kartoffel mindestens bis unterhalb Gernsheim, Haare und gefärbte Textil- und Wollfasern bis Mainz — werden die folgenden Ausführungen lehren.

Abwässer der Strohstoffabrik Rheindürkheim.

Die gelben schaumreichen Abwässer entströmten dieses Mal nur dem obersten Auslaufe und machen sich im Strom auch nicht in dem Maße bemerkbar wie sonst.

Ihre Temperatur betrug 2 m unterhalb des Einfalls 18° C, gegen 2° C des Rheins oberhalb.

Ein Profil quer über dem Strom etwas unterhalb der Strohstoffabrik ergab folgendes:

Linkes Ufer: Sichttiefe 75 cm (gegen 1 m unterhalb der Fabrik). Steine mit grauem Schlick, von inkrustierten Sphaerotilus- und Cladothrix-Rasen bedeckt, viele Strohzellen. Mitte des Stromes. Sichttiefe 1 m. Rechtes Ufer: Sichttiefe nahe der Böschung 60 cm, etwas weiter vom Ufer 85 cm. Ufersteine alle sehr stark verpilzt, genau wie oberhalb Worms an entsprechenden Lokalitäten. Massen von Trochilia palustris.

Rhein oberhalb und unterhalb Gernsheim.

Die Bedeutung der großen knieförmigen Stromkrümme bei Gernsheim für die Durchmischung des Rheinwassers sowie der darin enthaltenen Abwasserreste demonstrieren sehr instruktiv folgende beiden Profile:

A. Profil oberhalb Gernsheim.

Linkes Ufer: Sichttiefe 1 m. Im Plankton viele gefärbte Woll- und Textilfasern, Haare, Strohzellen, Zellulosefasern, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel nicht selten, vereinzelte Bakterien-Zoogloeen. Von Pseudoplankton noch deutlich erkennbare Reste von Hydrurus foetidus, der weit her vom Oberrhein stammt.

Mitte des Stromes: Sichttiefe 1 m. Sehr viele Zellulosefasern, inkrustierte Pilzflöckchen, gefärbte Wollfasern, Fettropfen, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel sehr einzeln. Rechtes Ufer: Sichttiefe 55 cm. Massen von Zellulosefasern, Sphaerotilus-Flocken, blaue Woll- und Textilfasern sehr vereinzelt.

B. Profil 2 km unterhalb Gernsheim.

Linkes Ufer: Sichttiefe 95 cm. Viele Zellulosefasern, Strohzellen, Haare, blaue Woll- und Textilfasern, Pilzflocken, vereinzelte inkrustierte Bakterien-Zoogloeen (Z. ramigera). Mitte des Stromes: Sichttiefe 85 cm. Massen von Zellulosefasern,

Pilzflocken, einzelne Pilzmycelien, Strohzellen, Haare, blaue Woll- und Textilfasern. Rechtes Ufer: Sichttiefe 80 cm. Massen von Zellulosefasern, blaue Woll- und Textilfasern nicht selten, Pilzflocken, ausgelaugte inkrustierte Stärkezellen der Kartoffel einzeln.

7 km unterhalb Gernsheim, ungefähr bei der oberen Mündung des Stockstadt-Erfelder Altrheins betrugen die entsprechenden Sichttiefen: Links: 90 cm, Mitte: 90 cm, Rechts: 85 cm.

Man beachte in der obigen Gegenüberstellung den Wechsel der Sichttiefen welcher die zwischen beiden Profilstellen sich vollziehende Durchmischung der Wassermassen sozusagen zahlenmäßig vor Augen führt. Überhaupt will es mir scheinen, als ob eine genaue Bestimmung der Sichttiefen an einer Reihe aufeinander folgender Profile ebenfalls ganz gute Anhaltspunkte dafür geben könnte, in welcher Entfernung und Zeit und in welchem Grade die Abwässer (und natürlich auch die detritusführenden Seitengewässer) sich mit dem Vorfluter mischen. Bei der Unvollkommenheit, welche der Sichttiefenbestimmung mit Hilfe der Secchischen Scheibe naturgemäß immer anhaftet, wäre es allerdings Bedingung, daß die Messungen bei möglichst gleichmäßigem Pegelstande nacheinander immer von demselben Beobachter mit demselben Instrumente durchgeführt würden.

Was unter solchen Voraussetzungen die Bestimmung der Sichttiefen nicht nur als Ergänzung und Sicherung der Planktonbefunde, sondern für sich allein zu leisten imstande ist, möge folgende Zusammenstellung der Sichttiefen erweisen, die ich im Laufe eines Tages an vier aufeinander folgenden Profilen einer Strecke von etwa 18 km aufgenommen habe:

Profilstelle	Sichttiefe in cm			Summe	Mittel
	Links	Mitte	Rechts		
Rhein bei Strohstofffabrik Rheindürkheim	75	100	60	235	78
Rhein oberhalb Gernsheim	100	100	55	255	85
Rhein 2 km unterhalb Gernsheim	95	85	80	260	87
Rhein 7 km unterhalb Gernsheim	90	90	85	265	88

Die kleine Tabelle zeigt uns also, daß die starke Trübung der rechten Stromseite, die, wie wir wissen, durch den Neckar sowie die Waldhofabwässer bedingt ist, sich bis Gernsheim auf das schärfste ausgeprägt erhält, 2 km unterhalb des Ortes aber im Querprofil kaum mehr besonders in Erscheinung tritt, da hier die Mischung der Wassermassen bereits fast völlig vollzogen ist. Die Sichttiefen werden im ganzen Querprofil einheitlicher und nehmen im ganzen betrachtet stromab immer mehr zu, d. h. das Wasser wird optisch reiner. Beachtenswert ist, daß trotz der beträchtlichen Differenzen, welche die einzelnen Komponenten in den Profilen oberhalb und unterhalb Gernsheim unter sich aufweisen, dennoch jeweils Summe und Mittelwert daraus einander recht nahe kommen.

X. Rheinstrecke Oppenheim-Mainz (4. Februar 1908).

Hafen von Oppenheim.

In dem ziemlich trüben Wasser des Hafens von Oppenheim — Sichttiefe 49 cm — ergab das Planktonnetz zahlreiche humöse Partikel, aber nur wenige Organismen des freien Wassers. Es wurden nur Oscillatoria rubescens, Asterionella gracillima, Fragilaria crotonensis, Stephanodiscus astraea, Tabellaria fenestrata var. asterionelloides, dann von Tieren Polyarthra platyptera, ein Dauerei von Triarthra longiseta, sowie einige Nauplien und Junge von Cyclops gefunden. Etwas zahlreicher waren die Bodenorganismen vertreten, wie Merismopedium convolutum, Stentor polymorphus, Trichodina pediculus, Paramaecium caudatum, Brachionus urceolaris, Rotifer vulgaris, sowie von innen her korrodierte Nadeln von Spongilla.

Der Altrhein von Ginsheim war durch Eis gesperrt.

Profil des Rheins bei Weisenau.

Wie von Hüningen ab an allen untersuchten Stationen war auch beim Endpunkte Weisenau die Art- und Individuenzahl der eigentlichen Planktonorganismen im freien Wasser des Rheins eine derart geringe, daß eine summarische Aufzählung derselben für das ganze Profil genügen muß.

Plankton des Rheins bei Weisenau.

Cyanophyceen:	Oscillatoria rubescens ziemlich einzeln.
Diatomeen:	Asterionella gracillima einzeln,
	Fragilaria crotonensis einzeln,
	Tabellaria fenestrata var. asterionelloides sehr einzeln,
	Stephanodiscus astraea ziemlich einzeln,
	Cyclotella comta sehr einzeln,
	Melosira spec. sehr einzeln.
Desmidiaceen:	Staurastrum gracile sehr einzeln.

An Pseudoplankton und Abwasserresten ergab sich folgendes:

Linkes Ufer. Sichttiefe 80 cm. Temperatur des Wassers 1,5° C. Bodenorganismen ziemlich spärlich: Melosira varians, Diatoma vulgare, Pleurosigma Parkeri, Ceratoneis arcus, abgestorbene Äste von Cladophora mit Cocconeis pediculus, Fäden von Oedogonium. Von Abwasserresten sehr viele Zellulosefasern, Haare, Woll- und Textilfasern, Federn, Strohzellen, Fett, Flöckchen von Sphaerotilus und Cladothrix.

Mitte des Stromes. Sichttiefe 80 cm. Bodenorganismen ähnlich wie links. Von Abwasserresten sehr viele Zellulosefasern, Haare, Woll- und Textilfasern, Strohzellen, Fett, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel, Bakterien-Zoogloeen, Flöckchen von Sphaerotilus und Cladothrix, Pilzmycelien.

Rechtes Ufer. Sichttiefe 61 cm. Bodenformen ähnlich wie links, dazu noch Cymatopleura solea, C. elliptica, Nitzschia palea, Fäden von Ulothrix zonata, Stiele von Carchesium mit Pilzfäden, Trochilia palustris. Von Abwasserresten Massen von Zellulosefasern, Haare, Woll- und Textilfasern, viele Flocken von Sphaerotilus und Cladothrix, ausgelaugte Stärkezellen der Kartoffel, zum Teil mit Bakterien bedeckt.

An allen Profilstellen füllte sich das Planktonnetz schon nach kurzer Zeit mit einem sehr beträchtlichen Rückstand von grauer Farbe. Auch im Glase blieb derselbe sehr voluminös, da das Gewirre von Zellulose-, Woll- und Textilfasern, Pilzflocken usw. nur wenig sedimentierte. Mineralische Flitter sowie humifizierte Partikel traten ganz in den Hintergrund.

Rückblick.

Überblicken wir zum Schlusse die bei der 7. biologischen Untersuchung des Oberrheins auf der Strecke von Basel bis Mainz gewonnenen Resultate, so ergibt sich zunächst einmal eine sehr auffällige Armut an eigentlichen Planktonorganismen im strömenden Rhein. Das ist zum Teil durch die Jahreszeit bedingt: diejenigen stehenden Gewässer, die für die Planktonzufuhr des Stromes in Betracht kommen, sind in den ersten Monaten des Jahres meist sehr arm an Plankton. Vergleichen wir nun die Liste der Planktonorganismen von Hüningen und Weisenau, so finden wir trotz der etwa 325 km betragenden Entfernung der beiden Orte eine sehr weitgehende Übereinstimmung in bezug auf die vorkommenden Arten. Da wie dort nur pflanzliche Organismen, vor allem Diatomeen, bei Hüningen aber in etwas größerer Individuenzahl. Dies dürfte darauf hindeuten, daß die Planktonorganismen, welche um diese Zeit im Rhein hinabtrieben, der Hauptsache nach aus dem Bodensee und den Schweizer Seen stammten. Die Zufuhr unterwegs war, wie sich schon in der abnehmenden Individuenzahl ausspricht, nur sehr gering, da die als Planktonreservoire dienenden Altrheine teils bei ihrer Mündung trocken lagen, teils zugefroren waren.

Was die festen Abwasserreste anbelangt, so ließen sich dieselben durchgehends auf weit beträchtlichere Strecken und viel weniger detritiert stromab verfolgen als bei höheren Pegelständen. Daß auch die gelösten organischen Stoffe der Abwässer ihre Wirkung weiter ausdehnten, geht aus der sehr starken Verpilzung der Ufer und zum Teil auch der Stromsohle, wie sie namentlich von Mannheim abwärts überall beobachtet wurde, hervor. Ich glaube nicht, daß diese stärkere Verunreinigung allein nur auf Rechnung der geringeren Verdünnung der Abwässer zu setzen ist; es dürfte hier, wie ich schon oben ausführte, die relative Armut des Niederwassers an suspendierten festen mineralischen Flittern, Sandkörnchen, Humus- und Schlickpartikeln usw., eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen.

Bericht über die Ergebnisse der 7. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis unterhalb Coblenz vom 27. Januar bis zum 5. Februar 1908.

Von

Professor **Dr. Marsson,**

Mitglied der königlichen Versuchs- und Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung.

Die 7. biologische Untersuchung des Rheins fand ebenso wie die ungefähr zwei Monate vorher vorgenommene bei sehr niedrigem Wasserstande statt.

Der mittlere Rheinpegelstand betrug im Monat Januar 1908 bei Mainz + 0,022 m (der Nullpunkt des Mainzer Pegels liegt bei 80,414 m über Normal-Null). Der tiefste Stand des Monats lag bei — 0,22 m am Vortage der Untersuchung, während er bei Beginn der Untersuchung am 28. Januar — 0,18 m zeigte und bis zum 1. Februar weiter stieg. Im Jahre vorher betrug der Mainzer Pegel bei Beginn der März-Untersuchung + 3,37 m.

Während des ganzen Monats Januar ging der Rhein von der Strecke Mainz ab mit Treibeis, welches teils vom Oberrhein kam, zum größten Teile aber aus dem Main zutrieb. Der Main zeigte gleichfalls sehr niedrige Wasserstände. Der mittlere Stand des Kostheimer Pegels betrug im Januar — 0,325, der tiefste Stand am 18. Januar — 0,60.

Die Schiffahrt hatte auf dem Rhein wegen des niedrigen Wasserstandes drei Wochen lang geruht; erst am 29. Januar zeigte sich bei steigendem Wasser wieder schwacher Schiffsverkehr. Die Schiffahrt auf dem Main war seit Beginn des Treibeises am 1. Januar und dann erfolgter Niederlegung der Wehre gesperrt.

Die Befahrung des Rheins war bei der 7. biologischen Untersuchung mit Schwierigkeiten verbunden; erstens weil auf gewissen Rheinstrecken wegen des niedrigen Waserstandes nicht die gewohnten Regierungsdampfer zur Verfügung standen, sondern an mehreren Tagen nur kleine Polizeiboote mit für die mikroskopische Untersuchung des frischen Materials ungenügenden Räumlichkeiten, in denen die Linsen des Mikroskops wegen der zuströmenden kalten Luft stets beschlagen waren, zweitens weil die Ufer und Häfen bezw. stillen Buchten meist mit Eis bedeckt waren. Da auch die Schiffahrt im Main gesperrt war, lagerten in den Rheinhäfen viele Schiffe, oft die Einfahrt derselben sperrend, so daß manche Untersuchungen wegen dieser

Hindernisse nicht so vollständig, wie bisher, ausgeführt werden konnten. Immerhin wurde über die biologischen Verhältnisse bei der kalten Jahreszeit und dem niedrigen Wasserstande ein genügend klares Bild gewonnen.

I. Rheinprofil oberhalb Mainz.

Dienstag, den 28. Januar 1908.

Witterung sonnig, mäßig starker Westwind.

Mainzer Pegel 8 Uhr morgens — 18,

„ „ 6 „ nachm. + 6

(bei Mittelwasser + 150, bei Niederwasser + 70).

Wassertemperatur 3,1 ° bei 7,1 ° der Luft.

Geruch des Wassers im Eimer: schwach dumpfig,

„ „ „ , in einer großen weithalsigen Flasche geschüttelt, gleichfalls: schwach dumpfig,

„ „ „ , in dieser auf 40 ° erwärmt: schwach süßlich.

Reaktion: neutral, nach 5 Minuten alkalisch.

Sichttiefe bei Mainz 1,32 m.

Das Rheinwasser ist so klar, wie es bei keiner der früheren Untersuchungen beobachtet wurde; bis weiter als 1 m Tiefe sind überall zerstreut treibende weiße und graue Pilzflocken zu beobachten.

A. Linke Flußseite oberhalb der Eisenbahnbrücke.

Sichttiefe 1,30 m (stets im Durchschnitt von 2 bis 3 Bestimmungen gemessen).

Eimerprobe: nach längerem Stehen haben sich am Boden viele graue Pilzflocken angesammelt, die meist weiße Spitzen zeigen, also unlängst gewachsen sind; im Vergleich zu den früheren Untersuchungen, mit Ausnahme der letzten auch bei niedrigem Wasserstande ausgeführten, hat sich nur wenig mineralischer Detritus abgesetzt. Geruch schwach dumpfig.

a) Treibendes Material (stets mit demselben großen Netz aus Seidengase Nr. 20 entnommen, durch welches in 5 Minuten durchschnittlich 2 cbm Rheinwasser hindurch filtrieren). Das konzentrierte Plankton bildet einen dicken schleimigen, bräunlichen Pilzflockenbrei.

1. Planktonische Organismen, nur einzeln vorhanden:
   Oscillatoria rubescens, im Verhältnis zu den überwiegenden Pilzen ziemlich häufig,
   Cryptomonas erosa, einzeln,
   Asterionella gracillima, einzeln,
   Melosira italica var. tenuis, einzeln,
   Fragilaria crotonensis, ganz einzeln,
   Synedra delicatissima var. angustissima, ganz einzeln,
2. Boden und Uferformen:
   Lysigonium (Melosira) varians,
   Synedra ulna und var. splendens,
   Microneis minutissima,

Navicula cryptocephala,
Navicula viridula,
Amphora ovalis,
Nitzschia linearis mit var. tenuis,
Nitzschia palea und sigmoidea,
Surirella splendida; alle diese Bodenformen ganz einzeln, sowie auch ganz einzeln die Schalen von Nitzschia linearis, Synedra ulna, Fragilaria capucina und Cymbella lanceolata.
Arcella vulgaris,
Monaden (Monas- und Bodoarten),
Euplotes patella, nicht selten,
Vorticella sp. schwärmend einzeln,
Carchesium lachmanni, einige gestielte Köpfe,
Callidina sp.

3. Pseudoplankton:

α) Mineralischer Detritus, im Vergleich zu früheren Befunden stark vermindert.

β) Fadenalgen: einzelne Fäden von Vaucheria und zersetzter Cladophora.

γ) Vegetabilischer und mineralischer Detritus: Moosfragmente, Spiralgefäße, Parenchymgewebe, Reste von Insektenlarvenhäuten, Spongillennadeln und undefinierbarer organischer Detritus.

δ) Treibende Pilze: Sphaerotilus natans, teils in Zersetzung, teils in frischer Bildung.

ε) Fabrik- und andere Abfälle: Zellulosefasern, nicht zusammenhängend und ohne Inkrusten, einzeln; Holzfasern mit Inkrusten; Strohzellen; Textilfasern, besonders weiße, gelbliche und blaue Wollfäden; tierische Haare, lange braune, wohl aus Gerbereien stammend; Fetttröpfchen usw.

Im Planktonsediment entwickelt sich mit Säure nur wenig Kohlensäure, kein Schwefelwasserstoff.

In 1 ccm in der Planktonkammer (vergl. die beiden letzten Berichte) geschöpften Rheinwassers werden gezählt im Durchschnitt von zwei Proben: 5 Trichome von Oscillatoria rubescens, 1 Nitzschia linearis, 1 Cryptomonas, 2 farblose Monaden, 2 Sphaerotilus-Flöckchen, demnach sind in 1 cbm ebensoviel Millionen dieser Organismen enthalten.

b) Flußboden: Viel feiner Kies mit Abfall verschiedener Art, einige Bruchstücke von Muschelschalen und dergl.; azoisch.

B. Strommitte.

Sichttiefe 1,25 m.

Plankton und Dretschezug wie bei A.

C. Rechte Flußseite oberhalb des Mainzuflusses.

Sichttiefe 1,23 m.

a) Treibendes Material wie bei A, doch etwas mehr Zellulosefasern, auch mehr Fetttröpfchen; gelbe Muskelfasern werden nicht gefunden.

In der Planktonkammer (1 ccm Rheinwasser) werden gezählt: 4 Oscillatoria rubescens, 4 farblose Monaden, 1 Aspidisca lynceus, 2 Sphaerotilus-Flöckchen.

b) Flußboden: Nur feiner Kies, azoisch. Nach jedem der Dretschezüge bleiben aber im Dretschebeutel dicke Pilzflocken kleben.

II. Main.

Kostheimer Pegel — 0,42 (der bisher bekannte niedrigste Stand — 0,60).

Wassertemperatur 1,1° bei 7,3° der Luft.

Geruch der Eimerprobe: eigentümlich scharf, auf 45° erwärmt: schwach kresseartig.

Reaktion: neutral, nach 5 Minuten ganz schwach alkalisch.

Die dem Mainflusse in seinem oberen Laufe und oberhalb der chemischen Werke noch eigene durch gelöstes und suspendiertes Calciumkarbonat bedingte alkalische Reaktion ist an seiner Mündung verschwunden und zwar durch saure Abflüsse, wie Berichterstatter schon bei einer früheren umfassenden Mainuntersuchung festgestellt hatte.

Seit Beginn des Eisganges, Anfang Januar, sind die Nadeln der Wehre gelegt. Der Stau ist demnach aufgehoben, so daß jetzt der Main überall durchfließendes Wasser führt. Durch diese Strömung, bedingt durch eine Wassermenge von 5 Millionen cbm, ist eine Reinigung des Grundes von den namentlich vor den Wehren angehäuften Schlammassen erfolgt, die allmählich dem Rhein zugeführt werden. Auch das Grundeis hat scheinbar viel Schlamm gehoben, der mit den Schollen weiter getrieben ist. Die Ufer des Mainflusses sind gleichfalls noch mit Eis bedeckt, das im Kostheimer Schleusenkanal noch eine Dicke von 26 cm hat.

Irgend welcher Besatz ist an den zurzeit freiliegenden Uferwänden nicht aufzufinden, nur viel Schmutz vom aufgetauten Schnee und Eis.

1. Main oberhalb der Kostheimer Zellulosefabrik.

Sichttiefe nur 27 cm.

a) Plankton fast von schwarzer Farbe und schleimig durch teilweise große Pilzflocken: Sehr viel schwarzer und dunkelbrauner Detritus und viel Sphaerotilus natans, welcher Pilz den Hauptbestandteil des Planktons ausmacht, dazwischen viele Vorticellen, besonders Vorticella campanula und große Kolonien von Carchesium lachmanni; planktonische Rotatorien sind ebensowenig wie im Rhein aufzufinden, nur zwischen dem Detritus einzeln Rotifer und Actinurus neptunius, sonst noch Difflugia globulosa, Stephanodiscus hantzschi, Synedra ulna und Diatomeenschalen (Synedra ulna, Nitzschia sigmoidea, Cymbellen u. a.), ferner junge Oligochaeten, einzelne Farbflitter, Textilfasern und ganz einzeln Zellulosefasern.

Das Sediment, das auch gröberen Sand enthält, gibt mit Säure nur eine sehr schwache Kohlensäureentwicklung, dagegen sogleich eine solche von Schwefelwasserstoff.

In 1 ccm Mainwasser werden gezählt: 3 schwärmende Vorticellen, 1 Cryptomonas, 2 Sphaerotilus-Flöckchen und viel feiner organischer Detritus.

b) Flußboden: Abfall verschiedener Art, wie Kartoffelschalen und dergl., rote Chironomus-Larven, viel Asellus aquaticus in älteren und jüngeren Exemplaren und junge Muscheln (Sphaerium).

2. Main unterhalb der Zellulosefabrik.

Sichttiefe 27 cm.

a) Plankton: Derselbe Befund wie oberhalb der Fabrik, jedoch viele Zellulosefasern, auch noch Aspidisca lynceus und lebende Nematoden.

In 1 ccm Mainwasser werden gezählt: 2 Zellulosefasern, 2 schwärmende Vorticellen, 1 rote Textilfaser, 1 Sphaerotilus-Flöckchen, 1 Schale von Nitzschia sigmoidea, 1 Schale von Synedra ulna, 1 abgestorbenes Closterium und viel organischer Detritus.

b) Flußboden: mazerierte Holzabfälle, doch noch nicht faulend und ohne Schwefelkörner, wie sie bei den früheren Untersuchungen meist gefunden wurden. Der freie starke Strom und das Grundeis haben wohl schon den Flußboden gereinigt.

Unterhalb der Kostheimer Zellulosefabrik treibt der Rhein mit viel Schaum, der aus den Fabrikausläufen in den Fluß gelangt. Diese Ausläufe liegen, wie auch bei der letzten Befahrung festgestellt wurde, frei; aus dem oberen fließt lauwarmes trübes Wasser ab von typisch koniferenholzartigem Geruch und schwach saurer Reaktion; in der Schöpfflasche sedimentiert ziemlich schnell eine weiße Schicht von Zellulosefasern. Aus dem unteren Auslauf fließt noch stark trübes lauwarmes Wasser ab von schwach saurer Reaktion und einem schwachen Nebengeruch nach schwefliger Säure, der bei der Erwärmung auf 50° deutlich hervortritt. Der Bodensatz besteht gleichfalls aus Zellulosefasern, wie auch der auf der Mainoberfläche treibende weißliche Schaum.

III. Stille Buchten bei Mainz.

1. Gustavsburger Hafen.

Im konservierten Teile des hier gefischten Planktons hatte sich an der Oberfläche eine dünne Schicht von Oscillatoria rubescens gebildet mit vielen Kohlepartikeln untermengt. Im mikroskopischen Bilde des frischen Planktons dominiert neben der genannten Alge viel Detritus. Eine Anreicherung von Diatomaceen ist diesmal nicht zu konstatieren, nur Sterne und einige Sternketten von Tabellaria fenestrata werden gefunden, Nitzschia linearis und sigmoidea, sonst nur Schalen von Synedra ulna, Surirella biseriata und Cymatopleura elliptica; Sphaerotilus nur einzeln, ebenso Textil- und Papierfasern, Kartoffelstärke, auch junge Larven von Chironomiden.

2. Winterhafen.

Im Winterhafen finden sich dagegen mehr planktonische Formen; neben der auch hier dominierenden Oscillatoria rubescens tritt besonders Asterionella hervor, nicht so häufig Tabellaria fenestrata, mehr einzeln Melosira italica var. tenuis, Melosira islandica subsp. helvetica forma tenuis, Fragilaria crotonensis und capucina, Stephanodiscus astraea, Synedra longissima und delicatissima, Diatoma tenue, Cymatopleura solea und Nitzschia sigmoidea; von Rotatorien ganz einzeln Anuraea cochlearis und Synchaeta tremula, sonst noch Cladothrix dichotoma, Lyngbya limnetica, einzelne Vorticellen, abgestorbene Staurastren und Closterien, eine gelbe Muskelfaser und Kartoffelstärke (wohl als Abfall aus den im Hafen lagernden Schiffen).

3. Zollhafen.

Hier überwiegt organischer Detritus neben feinem mineralischen und neben kleinen Sphaerotilus-Flocken; am häufigsten ist auch hier Oscillatoria rubescens, einzeln Melosira

tenuis, Nitzschia sigmoidea, Asterionella gracillima, Navicula cuspidata und Schalen von Synedra ulna und Fragilaria capucina, sonst noch Coleps hirtus, Textil- und Zellulosefasern, Holzschliff und Kartoffelstärke.

IV. Abwasserleitungen der noch nicht vollständig kanalisierten Stadt Mainz.

Die Sielausflüsse liegen trocken, auch die Mündung und der Ablauf des oberen großen Sieles; Besatz an den Steinen ist hier nicht zu finden, ebensowenig an den kleinen Ausläufen. Ein Dretschezug unterhalb der zurzeit trocken liegenden Ausflüsse fördert neben Kohle- und Schlackenstücken allerlei häuslichen Abfall herauf, wie Papierfetzen, Lumpen, viele Pflaumenkerne, die zum Teil mit Schwefeleisen überzogen sind u. a. m.; dazwischen häufig Gammarus fluviatilis, Asellus aquaticus und helle Chironomiden-Larven; etwas weiter unterhalb ein ähnlicher Befund, hier auch viele große Larven von Hydropsyche und von Perliden, auch viele Schneckenschalen. Eigentümlicherweise gehören dieselben dem sog. Genist an, es sind also Landformen, die vielleicht durch Hochwasserfluten mitgerissen und bei dem Niederwasser hier liegen geblieben sind; da sie jedoch auf den anderen untersuchten Rheinstrecken nicht gefunden wurden, ist es wahrscheinlicher, daß sie auf irgend eine Weise in die Mainzer Abwasserleitung geschwemmt sind und sich nun unterhalb des Ausflusses derselben zwischen Kies und Kohlestücken festgesetzt haben. Die meisten dieser Schneckenschalen gehören zum Kollektivgenus Helix, sowie den Gattungen Patula, Hyalina, Succinea und Clausilia an[1]).

Aus dem unteren nahe oberhalb der Kaiserbrücke gelegenen Siel fließt trübes Wasser ab von schwach alkalischer Reaktion; die Trübung wird nicht bloß durch organischen Abfall bedingt, sondern hauptsächlich durch mineralischen Detritus. Gelbe Muskelfasern werden nicht im Sediment gefunden.

Die Sichttiefe im Rhein oberhalb dieses Abflusses beträgt 1,08 m, unterhalb 0,90 m.

Ein Dretschezug unterhalb dieses Sieles fördert viel schwärzlichen und stinkenden Sand, der mit Säure Schwefelwasserstoffreaktion gibt; auf dem Sieb bleiben viele Flohkrebse (Gammarus pulex und fluviatilis) sowie sehr viele alte und junge Wasserasseln, auch Larven von Perliden. Die Steine unterhalb des Auslaufes zeigen gleichfalls schwarzen stinkenden Belag von Schwefeleisen, einige andere grünen Algenanflug bestehend aus Palmellen und einzelnen Phormidien, dazwischen reichlich Textilfasern.

Das unterhalb des Sielausflusses gefischte Plankton enthält neben viel Sphaerotilus, Oscillatoria rubescens, einzelnen Diatomaceen, vielen Vorticellen, Aspidisca lynceus, Lionotus fasciola und Nauplien auch viel Kartoffelstärke, jedoch keine gelben Muskelfaserreste.

Zusammenfassung der auf der Rheinstrecke oberhalb und unterhalb Mainz sowie an der Mainmündung gewonnenen Resultate.

Bei ziemlich gleich gebliebenem niedrigen Wasserstande seit der letzten vom 29. November bis zum 7. Dezember 1907 unternommenen Befahrung des Rheins war

[1]) Die Bestimmung dieser Gattungen verdanke ich der Güte des Herrn stud. rer. nat. Fritz Haas in Heidelberg.

im Januar 1908 die Luft- und Wassertemperatur gesunken; die letztere betrug anfangs 3° und fiel auf 1°, während des Nachts Frost herrschte, so daß der Strom sowohl vom Oberrhein her als auch die untersuchten Nebenflüsse mit Eis trieben. Es wurde demnach die 7. biologische Untersuchung bei niedrigsten Wärmegraden und bisher niedrigstem Wasserstande ausgeführt. Unter solchen Verhältnissen fiel es zunächst auf, wie schwach das Rheinwasser durch mineralischen Detritus getrübt wurde. Die bei Beginn der Befahrung festgestellte Sichttiefe von fast 1½ m war die höchste, welche bis dahin bei den biologischen Untersuchungen erhalten wurde. Die durch geringe atmosphärische Niederschläge während der letzten Monate bewirkte geringe Wasserführung des Rheins hatte einen mehr ruhigen Lauf desselben bedingt. Demgemäß konnte eine so starke Abreibung des Rheinkieses nicht statthaben, wie sie bei hoher Wasserführung durch eine gewaltige Durchwühlung des Flußbettes namentlich im Oberrhein und dadurch bewirktes Durcheinanderwerfen und andauerndes Abschleifen der am Grunde befindlichen Steinmassen natürlich ist. Durch den Mangel des sonst in großen Mengen im Rheinwasser zu Tal treibenden Detritus von kohlensaurem Kalk, welcher von den im Rheinkies vorhandenen Kalksteinbrocken abgeschliffen wird [1]), besitzt der Rhein bei länger andauernden Niederwasserständen ein geringeres Säurebindungsvermögen als unter mehr normalen Verhältnissen. Chemische Untersuchungen der Abwasserzuläufe der großen am Rhein liegenden chemischen Fabriken, die meist viel freie Säure dem Fluß zuführen, und ihrer Vermischungen mit dem Rheinwasser würden hierüber Aufschluß geben. Immerhin ist das im Rheinwasser gelöste Calciumbikarbonat noch in so reichlichen Mengen vorhanden, daß eine Ansäuerung des Rheinstromes auf in Betracht kommende weitere Strecken nicht möglich erscheint. Durch die von den Ufern und Feldern durch Regengüsse, wie am zweiten Tage der Untersuchung ermittelt wurde, in den Fluß geschwemmten lehmartigen Massen, welche sehr schnell die Sichttiefe von 130 auf 25 cm und weiter herabsinken ließen, kann kaum eine bemerkenswerte Erhöhung des säurebindenden Detritus bewirkt werden.

Infolge der niedrigen Temperatur des Rheinwassers scheint auch die Pilzbildung stärker geworden zu sein. Die Bildung der schon oberhalb Mainz zutreibenden Unmassen von Sphaerotilus-Flocken scheint nach früheren Beobachtungen zum größten Teil durch die Abwässer der bei Mannheim gelegenen Waldhofer Zellstoffabrik veranlaßt zu sein, die Flocken zeigten auch die Merkmale einer verhältnismäßig frischen Bildung. Das oberhalb Mainz gefischte Plankton bestand der Hauptmasse nach aus Sphaerotilus; die eigentlichen Rheinplanktonten traten dagegen fast gänzlich zurück. Die in der warmen Jahreszeit so häufige Tabellaria fenestrata schien völlig zu fehlen, und nur ganz einzeln wurden die sonst bekannten Formen der freischwebenden Kieselalgen gefunden. Von den anderen Planktonalgen war die aus den Schweizer Seebecken zutreibende Oscillatoria rubescens, welche dort während der kalten Jahreszeit eine rötliche Wasserblüte bildet, häufig und zwar noch häufiger als bei der letzten Winteruntersuchung; denn es berechnen sich jetzt bei Mainz auf 1 cbm Rheinwasser 5 Millionen Trichome dieser Alge. Die Oscillatoria rubescens tritt in gewissen Schweizer

[1]) Vergl. auch die Analyse des Rheinsediments im 4. Bericht, Bd. XXVIII, Heft 3, S. 571 und im 5. Bericht.

Seen im Monat September auf und wird an der Oberfläche bis in den April hinein beobachtet[1]). Stellenweise soll das Seewasser ein Aussehen haben „wie gärender roter Weinmost". Sie verdrängt zu Zeiten die durch Clathrocystis aeruginosa entstehende „gelbe Seeblüte" sowie auch die leichttrübende „Epidemie" der Tabellaria fenestrata var. asterionelloides. Wohl mit Recht weist Professor Schröter darauf hin, daß hier eine ähnliche natürliche Wechselwirtschaft stattfindet, wie auf unseren Wiesen und in den sich selbst überlassenen Wäldern, nur daß sie sich infolge der rascheren Vermehrung dieser Mikroorganismen auch schneller abspielt. So erklärt sich denn durch den Einfluß gewisser Schweizer Seen in den Rhein (sogar noch durch Zuflüsse aus dem Murtener See durch den Neuchateller und Bieler See durch die Aare zum Rhein) das Kommen und Verschwinden gewisser wasserblütebildender Algen und planktonischer Diatomaceen im Rheinstrome, während der Wechsel in der Häufigkeit des Auftretens der Rotatorien mehr von den Wasserständen und Ausspülungen der vielen Altwässer und Buchten des Rheins abhängig zu sein scheint. Crustaceen und planktonische Rotatorien wurden oberhalb Mainz im Januar nicht im Plankton entdeckt. Das Fehlen derselben ist eben, wie auch schon im 6. Bericht erwähnt, dadurch zu erklären, daß bei dem anhaltenden Niederwasser ihre Vermehrungsstätten, vorzugsweise die Altrheine, nicht ausgeschwemmt werden und sie somit nicht in das Rheinwasser übertreten können. Ebenso einzeln wurden die bei Hochwasser im Rhein zahlreich treibenden Boden- und Uferformen der Kieselalgen gefunden[2]), im Gegensatz dazu ließen sich im März 1907 bei Hochwasser auf 1 cbm Rheinwasser mindestens 4 Millionen lebende Grunddiatomeen zählen bezw. berechnen. Gleichfalls werden bei Hochwasser viele abgestorbene Diatomaceen, also nur Schalen, gefunden, während bei Niederwasser auch diese Schalen nur ganz einzeln im mikroskopischen Bilde in die Erscheinung treten. Saprobe Protozoen waren im Winterplankton oberhalb Mainz nicht selten. Es mag dieser Befund durch die Abwässer der Stadt Mannheim sowie durch die Verunreinigungen der noch weiter oberhalb liegenden größeren Städte wie Worms mit vielen gewerblichen Betrieben und Faulwässern seine Erklärung finden. Im Sommerplankton bei reichlich vorhandenen durchlüftenden Algen und fehlenden Pilzen wurden oberhalb Mainz nur selten saprobe Protozoen gefunden.

Um die kleinsten Arten derselben zu erkennen, erwies sich die Beobachtung von mit der Planktonkammer direkt geschöpften Rheinwasserproben mittels der Zeißschen Anastigmatlupe[3]) sehr zweckmäßig. Es konnten nach dieser Methode im Januar auf der rechten Rheinseite in 1 ccm Flußwasser 8 farblose Monaden gezählt werden, wonach sich für den cbm 8 Millionen dieser Bakterienfresser ergeben, also anzunehmen ist, daß auch große Bakterienmengen vorhanden sind. Diese kleinen, für die Beurteilung des Wassers doch wichtigen Organismen filtrieren sehr leicht durch das Planktonnetz und entgehen somit der Beobachtung.

---

[1]) Dr. W. Roth „Burgunderblut", Blätter für Aquarien- und Terrarienkunde, Magdeburg, Band XVII, 1906, S. 343 bis 348 und W. Bally, Der obere Zürichsee, Archiv f. Hydrobiologie und Planktonkunde, Stuttgart 1908, Bd. III, S. 135.

[2]) Vergl. den 4. Bericht S. 561.

[3]) Mitteilungen aus der Königlichen Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung 1907, Heft 9, S. 127.

Noch stärker als der Rhein trieb der Main mit Fadenpilzen, die mit Schwefeleisen beladen und viel stärker in Zersetzung übergegangen waren als die im Rhein treibenden. Wie im Rhein oberhalb Mainz muß nach den früheren Untersuchungen des Berichterstatters auch im Main der Ursprung dieser in Sphaerotilus natans übergeführten Massen organischer Substanz wohl zum größten Teil in den Abläufen aus Zellstoffabriken gesucht werden und zwar der beiden bei Aschaffenburg gelegenen. Die Pilzflocken gelangen bei den wegen des Eisganges im Main niedergelegten Wehren nicht zur Sedimentierung, sondern treiben den jetzt freien Strom hinunter in den Rhein. Daß in diesen Pilzmassen bei längerem Aufenthalte im Flusse und hinzukommenden weiteren Verunreinigungen aus Städten und Fabriken die saproben Protozoen noch viel bessere Lebensbedingungen finden als im Rhein, ist selbstverständlich; so wurde die stärkere Mainverschmutzung besonders durch umfassende Kolonien von Carchesium lachmanni angezeigt; auch das an anderen Stellen im Westen wie im Osten Norddeutschlands von mir in schwefelwasserstoffhaltigem Flußwasser in Massen aufgefundene Rotator Actinurus neptunius fehlte nicht. Wieder zeigte das Mainwasser den eigentümlichen scharfen Geruch, den ich als kresseartig bezeichnet habe, ähnlich dem der Gartenkresse Lepidium sativum. Der scharfe Geruch des Mainwassers kommt dadurch zustande, daß sich Benzolderivate aus den großen am Main gelegenen Farbwerken mit schwefelwasserstoffhaltigem Wasser mischen, welches Gas durch saure Abwässer aus reduziertem Gips und aus Schwefeleisen frei gemacht ist. Dieser ganz typische Geruch des Mainwassers ließ sich auch noch im Rhein auf der rechten Seite namentlich durch Erwärmen nachweisen. Die bedeutenden Schlammmassen des Mainflusses, die sich oberhalb der Wehre abgelagert hatten und beim Niederlegen der Wehre weggeschwemmt wurden, waren zum größten Teil schon Anfang Januar abgetrieben und konnten makroskopisch im Rhein nicht mehr bemerkt werden; jedoch wurde an im Rhein treibenden Eisschollen durch die beim Schmelzen erhaltenen Organismen sowie durch zahlreiche Schwefeleisenpartikel und durch, mit Schwefeleisen durchsetzten Detritus das Eis als Grundeis des Mainflusses erkannt (vergl. Seite 482).

Die Kostheimer Zellstoffabrik entläßt nach wie vor ungenügend gereinigtes Abwasser in den Main, wogegen der Flußgrund unterhalb der Fabrik durch den zurzeit freien (nicht gestauten) Mainstrom von den faulenden und schwefelhaltigen Holzabfällen gesäubert war.

Die typischen Planktonformen des Rheins, welche zur Zeit der Untersuchung im Strome fehlten, fanden sich in einigen stillen Buchten bei Mainz. Die Sielausflüsse der Stadt Mainz, deren Kanalisation noch nicht vollendet ist, zeigten nur Verunreinigungen durch häusliche Brauchabwässer an, Leitformen für Fäkalien wurden auch diesmal nicht gefunden, jedoch wieder zahlreiche Vertreter der gröberen Wasserfauna, welche sich von den städtischen Abfällen und deren Umsetzungsprodukten nährten. Eigentümlich war der Befund vieler Schalen von Landschnecken unterhalb der Sielmündungen (vergl. IV, Seite 478).

V. Rheinstrecke von Mainz bis unterhalb Biebrich.

Mittwoch, den 29. Januar 1908.

Gegen Morgen ist Schnee gefallen, später tritt anhaltendes Regenwetter ein. Das Rheinwasser verliert seine klare Beschaffenheit und trübt sich immer stärker, besonders wohl durch von den Feldern ablaufendes Schnee- und Regenwasser. Die Sichttiefe beträgt daher um 9 Uhr nur 25 cm. Auch der Mainzer Pegel ist von — 18 auf + 27 gestiegen und steigt bis Mittag auf + 44 cm. Die Wassertemperatur beträgt 2,4° bei 2,0° der Luft.

Der Rhein geht mit Eis, besonders auf der rechten Seite. Die Schollen kommen nach Meinung der Schiffsleute teils aus dem Neckar, teils aus dem Main, auch gehen sie als flache Schollen vom Ufereis des Casteler Feldes zwischen Castel und der Petersaue ab. Der Westwind hält sie auf der rechten Rheinseite. In den Schollen festgefroren und an denselben haftend werden viele Triebe von Potamogeton pectinatus bemerkt, auch viele untere Stengelteile und Wurzeln von Phragmites. Einzelne Schollen sind mit schwarzem Schlamm durchsetzt (wohl Grundeis, aus dem Main stammend); andere enthalten bräunliche Massen.

Von beiden Arten wurden Schollenteile in Eimern zum langsamen Auftauen gebracht. Das Schmelzwasser der schwarzen Schollen zeigt einen urinös fäkalartigen Geruch, mit Säure entwickelt sich aus dem Bodensatze viel Schwefelwasserstoff; auch auf mikroskopischem und mikrochemischem Wege ist viel mit Schwefeleisen durchsetzter Detritus zu konstatieren, ferner Diatomaceen besonders viel Stephanodiscus hantzschi neben Synedra ulna und Nitzschia sigmoidea, keine Kieselalgen des Rheins wie Tabellaria u. a., außerdem werden gefunden Rotifer, Actinurus neptunius, Scenedesmen und viele Diatomeenschalen. Nach diesem Befunde ist die Herkunft dieser Diatomeenschalen aus dem Main sehr wahrscheinlich.

Die mit bräunlichen Massen durchsetzten Schollen erweisen sich aufgetaut als nicht stinkend, mikroskopisch zeigt sich nichts Bemerkenswertes.

Das Rheinwasser hat bei Castel oberhalb der chemischen Fabrik von Kalle & Co. eine bräunliche Farbe und ist stark trübe. Die Sichttiefe beträgt nur 22 cm. Der Geruch ist eigentümlich scharf, tritt beim Erwärmen auf 45° viel deutlicher hervor, und ist, wie tags vorher der des Mainwassers, kresseartig.

Seitdem der Salzbach nicht mehr die Wiesbadener Abwässer aufnimmt, führt er nur wenig Wasser. Vor seiner Mündung nimmt er Abflüsse aus rechts und links gelegenen Teilen der chemischen Fabrik von Kalle & Co. auf. Rechts (also vom Rhein aus links) fließt ungefärbtes aber trübes Wasser ab von alkalischer Reaktion; auch das Salzbachwasser zeigt an seiner Mündung noch eine deutlich alkalische Reaktion.

Von den rheinseitig gelegenen Abflüssen der Kalleschen Fabrik entläßt der oberhalb mündende Abfluß ungefärbtes Wasser von schwach alkalischer Reaktion, der dann folgende aber stark alkalisches und stinkendes; beim Erwärmen tritt noch ein teerartiger Geruch auf. Gleich unterhalb dieses Ausflusses zeigen alle Steine einen schwarzen Belag von Schwefeleisen; gleichfalls geben die mit der Dretsche gehobenen

Steine mit Säure starke Schwefelwasserstoffreaktion. Im schwarzen stinkenden Schlamm leben rote Chironomus-Larven, Eristalis-Larven und Wasserasseln; weiter unterhalb ein ähnlicher Befund, hier noch lebende Vivipara fasciata und Schalen von Limnaea ampla.

VI. Abwässer der Stadt Wiesbaden.

1. Abfließend in die Flutrinne des Rheins.

An der Stelle, wo unter Wasser das Abwasserrohr ausmündet, quillt ununterbrochen stark trübes Wasser zur Oberfläche empor, sehr viel große Papierfetzen, auch allerlei Haus- und Küchenabfälle mit sich führend.

Unmassen von Möven — nach Zählung weit über 100 — halten sich teils über der Ausflußstelle schwebend und mit Erfolg nach Nahrung haschend, teils sitzen sie, ausruhend auf in der Nähe treibenden Eisschollen. Doch fliegen sie bald wieder den aufquirlenden Abfallmassen zu. — Nur hier wurden Möven beobachtet.

Die Sichttiefe beträgt oberhalb 22 ccm, 10 m unterhalb nur 16 cm.

Im hier gefischten Plankton machen sich bei der mikroskopischen Untersuchung sofort sehr viele gelb tingierte Muskelfasern bemerkbar, auch frische und gequollene Stärke, viele Fettropfen, noch zusammenhängende Zellulosefasern, also Reste von dünnem Papier, Textilfasern und zahlreiche pflanzliche Gewebselemente, wie sie für Küchenabwässer typisch sind; von saproben Organismen Monaden u. a. Flagellaten, Vorticellen, Zoogloeen, Sphaerotilus, Beggiatoen, Thiothrix, Nematoden usw., einzeln auch Cyclops mit Schläuchen von Amoebidium parasiticum.

2. Abfließend durch den Ochsenbach, in welchem auch einige Biebricher Ableitungen münden.

Bei dem Niederwasser des Rheins fließt das Ochsenbachwasser am steilen frei liegenden Ufer kaskadenartig dem Rheine zu.

Im Plankton des Ochsenbachs finden sich keine gelben Muskelfasern, auch keine saproben Protozoen, einzeln Textilfasern, Stärke und vegetabilischer Abfall, sowie viel mineralischer Detritus, von Sphaerotilus nur einzelne in Zersetzung befindliche Flöckchen, ferner junge rote Chironomus-Larven.

Der am Ablauf befindliche grüne Besatz besteht nur aus Cladophora glomerata mit jungen Chironomus-Larven, auch einzelnen von Tanipus.

Ein Dretschezug unterhalb des Ausflusses zeigt nur, daß hier Vivipara fasciata sehr häufig ist.

VII. Rhein an den Schiersteiner Fabriken.

Die Parallelwerke liegen meist 1 m über dem Wasserspiegel, während sie bei höheren Wasserständen meist überflutet gefunden wurden. An der Spritzzone werden Abfälle verschiedener Art, wie Gemüsereste noch in frischem Zustande, Papierfetzen, Lappen usw. gefunden, die wohl aus den Wiesbadener Abwässern herrühren. An dieser Stelle haben sich überwiegend Raben angesammelt, welche genug gute Bissen in dem Abfall zu finden scheinen; Möven sind hier nur einzeln zu bemerken.

Pflanzlicher Besatz ist an den Kribbensteinen nicht zu bemerken. Die Kribbenfelder sind teilweise zugefroren, teils offen; an den offenen Stellen wird gefischt, jedoch dem Anscheine nach ohne Erfolg.

An den ersteren drei Fabriken wird Abwasser nicht bemerkt.

Die chemische Fabrik von Lehmbach & Schleicher hat 4 Ausläufe; aus allen fließt trübes Wasser ab:

1. Farbe rötlich, Geruch dumpfig, Reaktion schwach alkalisch,

2. stark trübe mit schwarzem Detritus, schwach stinkend, von neutraler Reaktion. Mikroskopisch: nichts Bemerkenswertes,

3. blumig riechend, auf 40° erwärmt ähnlich wie Rosenwasser, von schwach alkalischer Reaktion,

4. von dumpfigem Geruch und schwach alkalischer Reaktion.

Die Ufersteine unterhalb des Abwasserlaufes sind schwarz; mikroskopisch zeigen sich nur Teer- und Fettropfen.

Aus der Bohneschen Strohhülsenfabrik fließt trübes Wasser ab von dumpfigem Geruch und neutraler Reaktion.

Die Dachpappenfabrik entläßt dagegen trübes und stark flockiges Wasser von deutlich teerartigem Geruch und alkalischer Reaktion.

Aus der Kunstdünger- und Leimfabrik von Otto & Co. fließt stinkendes Wasser ab von nur schwach alkalischer Reaktion. Im Steinbesatz der Ausflußrinne wächst viel Phormidium uncinatum mit einigen Oscillatoria-Fäden, wenig Sphaerotilus, dazwischen viele Nematoden. Die weite Bucht, welche das Abwasser der Ottoschen Fabrik aufnimmt, ist bis zum Abfluß in den Rhein mit schwarzem stinkendem Schlamm angefüllt; nach dem Absieben bleiben viele Schalen von Vivipara fasciata zurück, auch solche von Sphaerium, ferner finden sich Schalen von Unio pictorum und von Unio tumidus, welche Formen zeigen, die typisch sind für die Fauna des Mittelrheins. Lebende Vertreter der gröberen Fauna werden trotz mehrerer Dretschezüge in dem stinkenden Schlamm nicht gefunden, weder Mollusken, noch Chironomus-Larven noch Tubificiden. Auf der Rheinseite der Parallelwerksteine wächst jetzt in der Spritzzone reichlich Wassermoos.

VIII. Rheinprofil Budenheim-Niederwalluf.

Die Sichttiefe des Rheins, welche am Tage vorher bei Mainz noch 1,32 m betrug, wird jetzt auf nur 18 cm festgestellt sowohl rechts wie links, während sie in der Strommitte nur 16 cm beträgt. Die Eisschollen treiben um 3 Uhr noch ausschließlich auf der rechten Seite.

A. Linke Flußseite bei Budenheim.

Wassertemperatur 3,0°, bei 6,2° der Luft.

Geruch des Rheinwassers dumpfig-moorig, auf 40° erwärmt deutlicher hervortretend.

a) Treibendes Material: Sehr viel mineralischer Detritus; immer noch, auch hier auf der linken Rheinseite, große Sphaerotilus-Flocken, gleichfalls kommen links Zellulosefasern vor, nicht zusammenhängend wie aus Papierresten. Oscillatoria rubescens bleibt häufig, während die sonst typischen planktonischen Kieselalgen sich gar nicht oder nur ganz einzeln finden, wie Fragilaria crotonensis; neben einzelnen lebenden Nitzschien treiben auch einige Schalen von Bodenformen. Von Protozoen finden sich Vorticellen

und Carchesium lachmanni, doch nicht in so großer Anzahl wie im Dezember, ferner auch Monaden und Nematoden sowie einzeln Climacostomum virens.

In 1 ccm Rheinwasser werden gezählt: 2 Oscillatoria rubescens, 1 Nitzschia linearis, 1 Nitzschia sigmoidea, 1 Schale von Nitzschia linearis, 1 Schale von Synedra ulna, 1 schwärmende Vorticelle, 3 farblose Monaden, 4 einzelne Sphaerotilus-Fädchen, 2 organische Partikel und zahlreiche feine und etwas gröbere Partikel von mineralischem Detritus.

b) Flußboden: nichts Bemerkenswertes.

c) Besatz am Holzponton: Plumatella mit vielen Statoblasten, zur repens-fungosa-Gruppe gehörig, einzeln auch Spongilla fluviatilis; Cladophora wird nicht gefunden.

B. Strommitte.

a) Treibendes Material: Wieder sehr viel Detritus, besonders mineralischer, auch gröberer Sand und viel Sphaerotilus neben Zellulosefasern (einzelnen und zusammenhängenden), Holzfasern, Moos-, Chantransia- und Oscillatoria-Fragmenten, pflanzlichen Haaren, auch einzelne gelbe Muskelfasern. Melosira varians ist nicht selten, einzeln auch Beggiatoa-Vegetationen, schwärmende Vorticellen usw.

C. Rechte Flußseite bei Niederwalluf.

a) Treibendes Material: Sehr viele große Sphaerotilus-Flocken, viel mehr als links und in der Mitte, dicke Kolonien von Carchesium lachmanni, viele Zellulosefasern, rote Farbflitter, mit Schwefeleisen durchsetzte Arcellen u. a. tierische Reste, ferner das saprobe Rotator Hydatina senta, saprobe Ciliaten und Nematoden.

In 1 ccm werden gezählt: 3 Zellulosefasern, 3 Sphaerotilus-Flöckchen, 5 farblose Monaden, 1 Vorticelle, 1 gequollenes Stärkekorn, 5 Nitzschia linearis, 4 Synedra ulna, 1 Nitzschia sigmoidea, 1 Schale von Cymbella, organischer und mineralischer Detritus.

b) Flußboden: Sand, teils schwarz durch Schwefeleisen, und Asellus aquaticus sowie rote Chironomus-Larven.

c) Besatz an den Ufersteinen: Die Steine werden von den Eisschollen bestrichen; deshalb sind nur an den vertieften Stellen einige Cladophora-Büschel aufzufinden, von welchen dann wieder durch Sporen das neue Wachstum dieser an den Rheinufern überall häufigen Alge ausgeht.

Nach 3 Uhr dreht sich der Wind mehr nach Nord, und die Eisschollen treiben teilweise mehr der Strommitte zu.

IX. Rheinprofil Freiweinheim-Oestrich.

Donnerstag den 30. Januar 1908.

Witterung bedeckt, nur kurze Zeit etwas Schnee.

Wassertemperatur morgens $8^1/_2$ Uhr 1,0° bei 2,2° der Luft.

Der Rhein ist weiter gestiegen und zwar in der Nacht um 40 cm. Der Wind hat sich von West noch mehr nach Nord gedreht, weshalb die Eisschollen nicht mehr ausschließlich auf der rechten Rheinseite treiben; dieselben sind jetzt sämtlich mit angefrorenen Rohrstengeln besetzt und kommen nach Meinung der Schiffsleute aus dem Neckar, welche Ansicht durch spätere Angaben des Mainzer Wasserbauamtes be-

stätigt wird. Schwarze, mit viel Schwefeleisen durchsetzte Grundeisschollen, wie sie tags vorher aus dem Main zutrieben, werden nur ganz einzeln bemerkt. Der Main führt aber viel Schneeschmelzwasser, nach Angabe vom Spessart und Odenwald abgehend, dem Rheine zu; gleichfalls soll der Neckar durch Schneeschmelzwasser gestiegen sein. Die Sichttiefe bleibt eine sehr geringe.

A. Linke Flußseite.

1. Bei Freiweinheim, Sichttiefe 16 cm.

a) Plankton: Wie tags vorher bei Budenheim, doch etwas weniger Sphaerotilus, auch wenige Oscillatoria rubescens, wohl durch die Verdünnung durch Schneeschmelzwasser. Dagegen finden sich mehr Protozoen wie Colpidium colpoda, Chilodon cucullulus und Oxytrichinen, auch mehr Nematoden, von Rotatorien einzeln Notholca striata und Philodina erythrophthalma. Der Geruch des Planktons ist dumpfig, das Sediment entwickelt mit Säure Schwefelwasserstoff und viel Kohlensäure.

In 1 ccm Rheinwasser werden gezählt: sehr viel ganz feiner mineralischer Detritus, 4 Sphaerotilus-Fädchen, 1 Oscillatoria rubescens, 1 Colpidium colpoda, 1 Nitzschia palea, 2 Nitzschia linearis, 1 kleine Navicula, 3 Synedra ulna, 3 Schalen von Nitzschia linearis, 1 Schale von Nitzschia sigmoidea, 1 Schale von Amphora ovalis, 1 Schale von Navicula amphisbaena, 1 Schale von Cymbella, 3 organische Partikel von durchschnittlich 20 μ.

2. Ausfluß der Selz. Sichttiefe 22 cm.

Reaktion alkalisch.

a) Plankton: Sehr viel schwarzer, schwefeleisenhaltiger Detritus, Zoogloeen, Sphaerotilus, auch sehr häufig in dichotomer Form, Paramaecium aurelia und caudatum, Chilodon cucullulus und andere saprobe Protozoen, auch Nematoden, einzeln Oscillatoria formosa, Nauplius, von Diatomaceen meist Schalen. Das Sediment gibt mit Säure sofort starke Schwefelwasserstoffreaktion, gleichfalls starke Kohlensäureentwickelung.

b) Mit jedem Dretschezug wird viel schwarzer, stinkender Schlamm gehoben, der sehr viel Schwefeleisen enthielt; auf dem Siebe bleiben zwischen faulenden Blättern große rote Chironomus-Larven.

B. Strommitte.

Sichttiefe 15 cm.

a) Treibendes Material: ähnlich wie A, doch mehr vegetabilischer und animalischer Detritus, unter letzterem besonders Teile von längsgestreiften Lynceidenschalen.

In 1 ccm geschöpften Rheinwassers werden gezählt: 4 Synedra ulna, 3 Nitzschia linearis, 1 Navicula, 1 Band von Melosira varians, 5 Diatomaceenschalen wie in A, 1 Oscillatoria rubescens, 1 Lyngbya limnetica, 1 Colpidium colpoda, 1 Sphaerotilus-Flöckchen und feiner Detritus.

b) Flußboden: Azoischer feiner Kies.

C. Rechte Flußseite.

1. Bei Oestrich, Sichttiefe 18 cm.

Geruch: eigentümlich dumpfig, beim Erwärmen stärker hervortretend.

a) Treibendes Material: Viel organischer und mineralischer Detritus, auch Fetttropfen, aus der Oestricher Chemischen Fabrik stammend. Sphaerotilus ist in großen Flocken sehr häufig, Zellulosefasern weniger, einzeln Stärke und Beggiatoa-Vegetationen; von Protozoen wieder Climacostomum virens, Lionotus fasciola und anser, Euplotes patella und Chilodon cucullulus, ferner Callidina, Nematoden und ganz einzeln Pediastrum boryanum.

Das Sediment gibt mit Säure Schwefelwasserstoffreaktion.

In 1 ccm geschöpften Rheinwassers werden gezählt: 2 große schwarze Detritusbrocken und viele kleine, 5 Sphaerotilus-Flöckchen, außerdem noch einzelne Fäden, 1 Stärkekorn, gequollen, 1 Zellulosefaser, 4 farblose Monaden, 1 Vorticella schwärmend, 1 Chilodon cucullulus, 1 Scenedesmus quadricauda, 4 Synedra ulna, 5 Nitzschia linearis, 3 Schalen dieser Art und 9 Schalen von Pleurosigma, Cymatopleura solea, Cymbella und Navicula.

b) Flußboden: Abfall verschiedener Art mit dickem in Zersetzung begriffenen Sphaerotilus-Brei, auch einigen roten Chironomus-Larven.

Die Chemische Fabrik von Koepp & Co. entläßt morgens $8^1/_2$ Uhr viel weißlich trübes Abwasser von schwach alkalischer Reaktion; mit dem Abwasser fließt reichlich Fett ab, wohl Maschinenöl, das sich auf der Oberfläche des Wassers am rechten Ufer entlangzieht.

2. Rhein bei Winkel, Chemische Fabrik von Geromont, Goldenberg & Co., in welcher Weinhefe, meist ausländische, zur Verarbeitung auf Weinsäure gelangt.

Sichttiefe oberhalb der Fabrik 16 cm, unterhalb des Abwasserauslaufes 13 cm.

Es sind zwei Abläufe vorhanden, der eine am jetzt flachen Ufer, der andere mündet in der Flutrinne unter Wasser aus. Der Uferablauf führt trübes rötliches Wasser von hefeartigem Geruch und sehr stark alkalischer Reaktion. Abwasser aus dem Flußeinlauf ist nicht zu fassen.

Oberhalb der Fabrik wird nur wenig Schlamm von moorigem Geruch gedretscht, zugleich Gammarus pulex und fluviatilis, nicht selten Larven von Hydropsyche und Chironomiden, auch von Leptocerus; im Dretschebeutel haftet wieder viel Sphaerotilus in dicken, grauen Klumpen, auch einzeln in noch weißen, also frischen Flocken.

Der Flußboden unterhalb der Fabrik enthält viel mehr Schlamm, der stinkend ist; von Gammarus werden einige abgestorbene Exemplare gehoben, lebend Asellus aquaticus, rote und helle Chironomidenlarven sowie eine Larve von Baetis; bei der mikroskopischen Untersuchung des Schlammes wurden viele in Zersetzung begriffene Hefezellen neben Sphaerotilus gefunden.

X. Rhein bei Rüdesheim und Bingen.

Der Rhein treibt jetzt mit vielen Aststücken und Zweigresten besonders von Weiden, gleichfalls mit zahlreichen Stengelteilen von Phragmites sowie dessen Wurzeln.

Das Treiben der Eisschollen läßt nach; das Neckareis ist bereits stromabwärts gelangt. Das Rheinwasser ist stark getrübt und bildet lehmig wolkige Schichten, also mit noch nicht völliger Durchmischung der lehmigen Bestandteile.

1. Rüdesheim. Der Rüdesheimer Hafen ist fast gänzlich mit dickem Eis bedeckt, demnach nicht befahrbar.

Besatz an den Pontons ist wegen des Eisgangs der letzten Tage auf der rechten Rheinseite nicht aufzufinden.

Die zahlreichen Rüdesheimer Haus- und Gossenabflüsse liegen bei dem noch niedrigen Wasserstande trocken, nur aus einigen fließt schwach trübes Wasser ab von schwach alkalischer Reaktion, schleimiger Besatz wird nirgends bemerkt. An einigen Stellen der Ufermauer findet sich Plumatella.

2. Bingen. An der Ufermauer wächst noch etwas Cladophora und Vaucheria, an den Steinstufen der Flußtreppe finden sich Räschen von dunkelgrüner Farbe, welche als Symploca muscorum (Agh.) Gom. bestimmt werden.

Der Binger Pegel zeigt mittags + 1,78.

3. Binger Hafen; derselbe ist in seinem hinteren Teile mit Eis bedeckt, jedoch bis zur Mitte eisfrei.

Plankton: Viel Detritus, besonders mineralischer, durch Schiffsbewegung aufgewirbelt. Verunreinigungen machen sich hier bemerkbar durch kleine Monaden und schwärmende Vortizellen als Bakterienfresser, viel Sphaerotilus dichotomus, mehr einzeln Sphaerotilus natans, zahlreich sind auch Nematoden sowie nicht selten Trichome von Oscillatoria limosa. Von Carchesium lachmanni sind nur Stiele vorhanden. Die Planktonformen der Diatomaceen treten fast gänzlich zurück, es wird nur ein Stern von Asterionella gefunden, dagegen häufig Nitzschia sigmoidea, einzeln Nitzschia linearis, Melosira varians und Surirellen, von letzteren auch viele Schalen, ebenso von Synedra ulna, von Cymbellen, Cymatopleura elliptica und solea, Fragilaria capucina usw.; von Rotatorien nur Colurus bicuspidatus und Synchaeta tremula, ferner Macrobiotus, Arcellen und Difflugia pyriformis.

XI. Nahe.

Sichttiefe 30 cm. Reaktion neutral, auch noch nach 10 Minuten; am Ufer sind viele Eisschollen angetrieben.

a) Treibendes Material: Sehr viel Detritus, besonders vegetabilischer, darunter solcher aus Gerbmaterialien stammend, wie Haare der Sumachpflanze, Textilfasern, gequollene Stärke, Vogelfederstrahlen, Moosfragmente und Pinuspollen. Von Pilzen nur vereinzelt Cladotrix und Mucorhyphen. Nicht selten ist Oscillatoria maxima, einzeln Melosira varians, Synedra vaucheriae, Synedra ovalis var. minuta und var. pinnata, Surirella splendida, Fragilaria construens und capucina, Nitzschia sigmoidea, Pediastrum boryanum var. brevicorne, Synchaeta oblonga, Nematoden, Alonapanzer, Fragmente von Chantransia und absterbende Cladophora, teils besetzt mit Cocconeis pediculus, Spiculae usw. Von Protozoen noch vereinzelt Vorticellen und ganz einzeln Prorodon griseus, von Carchesium nur Stiele.

Mit Säure entwickelt sich im Sediment weder Kohlensäure noch Schwefelwasserstoff.

b) Flußboden: Größere Steine ohne Besatz, Holzreste und Wurzelfasern, dazwischen Gammarus fluviatilis.

Zusammenfassung der auf der Rheinstrecke von Biebrich bis zur Nahemündung gewonnenen Resultate.

Während zur Zeit der Befahrung der Biebricher Rheinstrecke die Abwässer der chemischen Fabrik von Kalle & Co. sich auf eine nur kurze Rheinstrecke bemerkbar machten, ebenso die der Schiersteiner Fabriken mit Ausnahme der nur die Bucht verschmutzenden Faulwässer der Kunstdünger- und Leimfabrik von Otto & Co., wiesen die neuerdings direkt in die Flutrinne geleiteten Abwässer der Stadt Wiesbaden eine augenscheinlich ungenügende mechanische Klärung auf. Die zur Oberfläche des Flusses emportreibenden Abfälle verschiedener Art dienten Scharen von Möwen sowie auch weiter unterhalb den Raben als willkommene Atzung. So trägt neben der Selbstreinigung der Gewässer durch Faktoren chemischer, biologischer und physikalischer Art auch die Fauna der Luft dazu bei, den Fluß von noch frischen Abfällen, ehe sie zur Fäulnis gelangen, zu entlasten. Auf mikrospischem Wege machten sich Leitfragmente für städische Abwässer noch deutlich bis Niederwalluf und schwach noch bis Oestrich bemerkbar.

Während der Rhein bei Beginn der Untersuchung eine sehr hohe Sichttiefe zeigte, hatte sich dieselbe an den nächsten beiden Tagen bis auf den 8. Teil (132—16) vermindert und zwar durch Regen- und Schneeschmelzwasser bedingte, lehmige Zuflüsse. Diese Verdünnung bewirkte, daß jetzt noch weniger Planktonten gefunden wurden als oberhalb Mainz; dagegen traten naturgemäß mehr Bodenformen von Kieselalgen, sowie deren Schalen in die Erscheinung. Auch die bakterienfressende Mikrofauna schien sich durch die Abschwemmung vermehrt zu haben, wenngleich sie nicht so zahlreich vorhanden war, wie bei der Untersuchung zwei Monate vorher. Vielleicht waren damals nicht so frische Abwässer aus den Wiesbadener Sielen geflossen, wie jetzt bei mangelhafter mechanischer Reinigung.

Die auf der linken Seite mündende und Abwässer von hessischen Fabriken aufnehmende Selz erwies sich, wie auch bei allen früheren Untersuchungen, als stark verunreinigt; jedoch gingen die Verunreinigungen des nur wenig Wasser führenden Flüßchens nicht weit über die Selzbucht hinaus. Ebensowenig vermochten sich die Abwässer von zweien auf der rechten Rheinseite gelegenen Fabriken (Chemische und Weinsteinsäurefabrik) nur auf ganz kurze Strecken im Rhein bemerkbar zu machen. Auch bei dieser Winteruntersuchung charakterisierte sich die rechte Rheinseite durch Massen von treibenden, faulenden, aus dem Main kommenden Wasserpilzen sowie durch schwefeleisenhaltigen Detritus.

Der Nahefluß, dessen mehrfache Verunreinigung durch Gerbereiabwässer ich Gelegenheit hatte in früherer Zeit bei einer anderen Angelegenheit zu untersuchen, hatte sich bei seiner Mündung in den Rhein soweit selbst gereinigt, daß nur auf mikroskopischem Wege einige Gewebselemente von Gerbmaterialien zu erkennen waren.

XII. Rheinprofile von Aßmannshausen und Bacharach.

Diese Rheinstrecke konnte nicht so eingehend befahren und untersucht werden wie früher, da am Morgen des 31. Januar wegen des niedrigen Wasserstandes im

Binger Loch nur ein kleines Polizeiboot zur Verfügung gestellt wurde, auf welchem eine Untersuchung des frischen Materials unausführbar war, da das Boot stark schwankte und die Linsen infolge der Kälte andauernd beschlugen. Erst in St. Goar traf ein größerer Regierungsdampfer ein.

Witterung: bedeckt und etwas Schnee, später aufklarend.

Temperatur des Wassers: 2,0 ° C bei 1,2 ° der Luft.

Geruch des Wassers: schwach dumpfig; beim Erwärmen auf 40 ° C eigentümlich süßlich, besonders auf der rechten Rheinseite. Das Treiben von Eisschollen hat nachgelassen, nur einzelne Schollen treiben auf der linken Rheinseite aus der Nahe ab. Aststücke, Holzreste und Rohrstengel werden besonders in der Strommitte bemerkt.

Die am vorhergehenden Tage noch bei Rüdesheim-Bingen beobachteten lehmig-wolkigen Trübungen sind nach der Durchwirbelung im Binger Loch nicht mehr wahrzunehmen; das Rheinwasser ist jetzt mehr gleichmäßig durchmischt und hat eine durchweg gelb-bräunliche Farbe angenommen.

Die Sichttiefe beträgt auf der linken Seite 28 cm, auf der rechten nur 20 cm.

Das Plankton weist keine bemerkenswerten Unterschiede zwischen der linken und rechten Rheinseite auf. Im Gegensatz zur Strecke Budenheim bis Aßmannshausen haben sich die saproben Protozoen stark verringert, nur Vorticellen werden noch gefunden. Den Hauptbestandteil des treibenden Materials macht Detritus aller Art aus, mineralischer, vegetabilischer und animalischer, besonders der erstere, sowie massenhaft Sphaerotilus, vorwiegend an der rechten Seite. Von Diatomaceen sind Melosira varians und Synedra ulna var. splendens am meisten vertreten, daneben kommen, wie immer, Nitzschien vor sowie Schalen von Surirellen, Cymatopleura u. a. Gattungen. Einzeln findet sich Oscillatoria rubescens sowie Nematoden und ganz junge Chironomidenlarven. Mit Säure übergossen entwickelt sich aus dem Plankton der rechten Rheinseite viel mehr als aus dem der linken neben sehr viel Kohlensäure auch Schwefelwasserstoff, ungelöst bleibt jetzt sehr viel gröberer Sand. Auf der rechten Seite treiben auch häufig Zellulosefasern.

In 1 ccm in der Strommitte geschöpften Rheinwassers werden gezählt: 1 Pleurosigma attenuatum, 1 Nitzschia linearis, 1 Band von Fragilaria capucina, 2 Synedra ulna, 1 Schale derselben, 1 schwärmende Vorticella und viel mineralischer Detritus.

Da die Eisschollen auf der Strecke Bacharach sich mehr auf der rechten Seite gehalten haben, können auf der linken Seite am Ponton von Bacharach noch Reste von grünem Besatz abgeschabt werden; er besteht aus Moos und aus meist verstümmelter Cladophora. Über den letzteren Befund macht der vorzügliche Cladophorenkenner Dr. Brand in München mir folgende Mitteilung: „Die Aufsammlung besteht fast ausschließlich aus degenerierter und hochgradig verstümmelter Clad. glomerata. Eine Varietät läßt sich nicht bezeichnen, da die alten Fäden nur in Resten vorhanden sind, die von überlebenden Zellen — und zwar meistens von der Sohle — reproduzierte junge Vegetation aber noch zu wenig entwickelt ist, um einen bestimmten diesbezüglichen Charakter erkennen zu lassen.

Nebstdem fanden sich außer den allgegenwärtigen Diatomeen noch Fragmente von Ulothrix- und Tolypothrix-Fäden, eine Stigeoclonium-Sohle, ein Chroococcus und schließlich eine Pseudochantransia (von Batrachospermum), letztere noch unentwickelt.

Zur Vermeidung von Mißverständnissen möchte ich bezüglich letzterer Bezeichnung konstatieren, daß sie noch nicht rite in die Systematik eingeführt ist. Im Jahre 1897 (Hedwigia p. 718) habe ich sie für jene Chantransia-Arten in Vorschlag gebracht, welche Überformen anderer Florideen darstellen. In de Tonis Syllage ist sie aber nicht akzeptiert worden, sondern man hat dort vorgezogen, für diese biologischen Formen den alten Gattungsnamen Audouinella auszugraben. Nur Oltmanns (I. 651 und II. p. 205 u. 213) hat sich insofern angeschlossen, als er die Bezeichnung: Pseudochantransia an den bezeichneten Stellen in meinem Sinne verwendet."

Zwischen der Cladophora finden sich auch rote Ablagerungen von Eisenoxydhydrat.

Die Untersuchung des Flußbodens ist gleichfalls vom Polizeiboote aus mit Schwierigkeiten verknüpft. Auf der linken Rheinseite erreicht die Dretsche nicht den Grund. In der Mitte wird lediglich Sand- und Schieferbruch gehoben, auf der rechten Seite dagegen viel Gammarus pulex, sowie Larven von Hydropsyche und von Perliden.

XIII. Rheinprofil St. Goar — St. Goarshausen.

In den Planktonbefunden zeigen sich keine Unterschiede mit den Befunden der bei Bacharach untersuchten Profilstrecke. Die Sichttiefe beträgt bei St. Goar 24 cm, im Hafen von St. Goar 35 cm; auch in diesem halten sich viele Sphaerotilus-Flocken schwebend, da am oberen Ende des Hafens in einer Breite von etwa $^1/_2$ m Rheinwasser zuströmt. Von Diatomaceen findet sich Melosira varians als eine Leitform für bereits mineralisierte organische stickstoffhaltige Substanz — also für stattgehabte Verunreinigungen. Sonst kommen noch vor Epistylis coarctata, Rotifer vulgaris, Nematoden, Anthophysa-Stiele und Oscillatoria-Bruchstücke.

In 1 ccm geschöpftem Rheinwasser wurden gezählt: 1 Nitzschia sigmoidea apiculata, 1 Schale von Nitzschia linearis, 1 Schale von Navicula cryptocephala, 1 Schale von Pleurosigma attenuatum, 1 Schale vnn Synedra ulna, 1 Fettröpfchen und feiner Detritus.

Mit der Dretsche wird im Hafen, wie auch sonst in allen anderen Rheinhäfen, viel grauer, kalciumcarbonathaltiger Schlick gehoben von modrigem Geruch; auf dem Siebe bleiben aus 10 l Schlamm 8 große rote Chironomus-Larven und 5 Tubificiden.

Der Hafendamm, welcher den Hafen vom Rhein trennt, ist fast auf seiner ganzen Länge mit dunklem Moos bewachsen, welches als Cinclidotus fontinaloides bestimmt wird.

XIV. Rhein bei Boppard.

Sichttiefe 26 cm.

Auch hier sind die Ufermauern, die sonst unter Wasser liegen, mehrere Meter hoch mit Moos bewachsen; in der Spritzzone tritt dazwischen einzeln Cladophora glomerata auf. Hier finden sich auch überall Stiele von Carchesium lachmanni, die Köpfe sind abgestorben und meist verschwunden, ein Zeichen, daß vordem hier stärker verun-

reinigtes Wasser geflossen ist. Die umfassenden Moosrasen bestehen nicht wie bei St. Goar aus Cinclidotus, sondern ausschließlich aus Barbula fallax und zwar aus einer durch die periodischen Überflutungen von der normalen recht abweichenden Form. Löske sagt: „Ein veränderliches Moos, das durch periodische Überschwemmung in dieser Probe noch besonders abweichend ist! Es gehört nicht zu den Wassermoosen, verträgt aber eine gute Portion Wasser."

Im Rheinplankton bei Boppard werden viele Beggiatoa-Vegetationen gefunden, deren Fäden stark mit Schwefel angereichert sind, auch Rotifer vulgaris, gestielte Vorticellen usw. Das Planktonsediment gibt mit Säure übergossen neben viel Kohlensäure eine sofortige Reaktion auf Schwefelwasserstoff.

In 1 ccm geschöpften Rheinwassers werden gezählt: 1 Bodo saltans, 2 andere Monaden, 1 schwärmende Vorticelle, 1 Faden von Beggiatoa alba, 1 Flöckchen Sphaerotilus, 1 Faden Cladothrix, 1 kleine Mucorhyphe, 4 Nitzschia linearis, und vitrea, 1 Nitzschia acicularis, 2 Navicula, 1 Synedra delicatissima, 1 Schale von Synedra ulna, je 1 Schale von Nitzschia linearis, Epithemia sorex und Pleurosigma, 1 Stärkekorn, 1 Fettröpfchen und viel feiner mineralischer Detritus.

Am Flußboden nahe oberhalb der Siele wird Sand und Abfall verschiedener Art gehoben, dazwischen ziemlich häufig rote Chironomus-Larven und Gammarus fluviatilis. Unterhalb der Siele derselbe Befund, doch sind große rote Larven und stellenweise stinkender Schlamm noch häufiger, einzeln kommen auch helle Larven von Chironomiden vor.

Die Untersuchung des aus 5 städtischen Abwässerausläufen mittags 12 Uhr abfließenden Wassers ergibt folgende Resultate:

1. trübe, stark alkalisch, etwas fleischig riechend,
2. ziemlich klar, schwach alkalisch, geruchlos,
3. trübe mit Bodensatz, der meist aus Kartoffelstärke besteht, neutral, fast geruchlos,
4. trübe, stark alkalisch, stinkend,
5. trübe, alkalisch, schwach stinkend.

Mikroskopischer Befund: meist gequollene Kartoffelstärke, parenchymatisches Gewebe u. a. pflanzlicher Abfall, quer gestreifte Muskelfasern aus frischem, nicht aus verdautem Fleisch, Fettröpfchen usw.

Eine Erhöhung der alkalischen Reaktion ist im Rheinwasser gleich unterhalb der Ausläufe nicht festzustellen, nur der Geruch ist etwas mehr dumpfig als in der Strommitte.

XV. Rhein bei Oberlahnstein.

Auch bei der Weiterfahrt bis zur Lahnmündung werden die Parallelwerke mit viel Moos bedeckt gefunden, welches sich meist als Cinclidotus fontinaloides erweist. Bei Oberspay, am „Oberspayer Grund", hat sich unterhalb der Rheinbiegung ein großes Lager von feinem Sand gebildet, der als abiotisch befunden wird; weiter unterhalb, bei Rhense wird gröberer Kies und reichlich Gammarus pulex, sowie Larven von Hydropsyche und großen Perliden gehoben. Ein weiterer Dretschezug auf der rechten Rheinseite fördert Steine mit grünlichem Besatz, der Kalciumcarbonat enthält

und mit Säure stark aufbraust. Der grünliche Teil erweist sich als bestehend aus Entwickelungszuständen verschiedener Schizophyceen: Calothrix, Tolypothrix, Schizothrix usw.

Am Ponton von Oberlahnstein werden nur Reste von Cladophora glomerata gefunden fast ohne Besatz von Kieselalgen.

Die Sichttiefe ist immer noch eine geringe, nur 21 cm.

Das Plankton zeigt dieselbe Zusammensetzung wie weiter oberhalb: mineralischer Detritus und Sphaerotilus Flocken machen die Hauptmasse aus, dazwischen finden sich Arcellen und Difflugien (Diffl. globulosa und corona), saprobe Protozoen einzeln wie Vorticellen und Euplotes, von Diatomaceen nur Synedra ulna, Nitzschia sigmoidea und Melosia varians, sonst noch Pediastrum boryanum, Cosmarium botrytis, verblaßte Chantransia-Fragmente und Oscillatoria-Bruchstücke.

XVI. Lahn.

Farbe: lehmig gelb.

Sichttiefe: 31 cm.

Geruch: nicht irgendwie typisch, jedoch nach dem Erwärmen auf 40 ° C ähnlich wie Kartoffelbrühwasser.

Temperatur des Wassers 4 Uhr nachmittags: 1,2 ° C bei 4,2 ° C der Luft.

Reaktion: neutral auch nach 10 Minuten.

Die Lahn treibt noch mit einigen Eisschollen.

a) Plankton: Viel mineralischer Detritus, auch reichlich organischer verschiedener Art, wie pflanzliches Gewebe und Spiralgefäße, Moosfragmente, Hüllen von Insektenlarven, Zellulosefasern, teils in Zersetzung, u. a. Abfall; von Pilzen nur einzelne Cladothrixfäden und am Detritus haftender Leptothrix; von grünen Algen einzelne Fäden von Ulothrix und Vaucheria, Pediastrum boryanum; von Diatomaceen: Fragilaria capucina, Cymatopleura elliptica, Melosira varians zum Teil auch mit Leptothrix besetzt und Nitzschia sigmoidea, Schalen von Synedra ulna, Surirella splendida und ganz einzeln von Fragilaria virescens, sonst noch Arcellen und Diptereneier. Das Sediment gibt mit Säure weder Entwickelung von Kohlensäure noch von Schwefelwasserstoff. In 1 ccm geschöpften Rheinwassers werden gezählt nur 1 Bruchstück von Synedra ulna, 1 pflanzliche Spirale, 1 blaue Textilfaser und viel feiner mineralischer Detritus.

XVII. Stiller Rheinarm bei Oberwerth.

Sonnabend, den 1. Februar 1908.

Sichttiefe 40 cm (im Rheinstrom 24 cm).

Wassertemperatur morgens $8^1/_2$ Uhr 2,0 ° bei 1,0 ° der Luft.

Witterung: leichtes Schneetreiben.

a) Plankton: Anreicherung von Oscillatoria rubescens, von anderen Algen einzeln Pandorina morum, Pediastrum duplex var. clathratum, Scenedesmus obliquus, Closterium acerosum, Staurastrum gracile und Synura uvella; von Diatomaceen: Synedra delicatissima mit var. mesoleia häufig, Fragilaria crotonensis nicht selten, einzeln dagegen Fragilaria capucina, Synedra ulna, Synedra actinastroides, Asterionella gracillima,

Pleurosigma acuminatum und attenuatum, Tabellaria fenestrata, Nitzschia sigmoidea, linearis, vitrea und vermicularis, Navicula cryptocephala und cuspidata, Epithemia sorex, Melosira ambigua und italica var. tenuis, Lysigonium varians, Stephanodiscus astraea und Cyclotella comta; von Protozoen: Stentor roeseli, schwärmende Vorticellen und einzeln Paramaecium caudatum; von Rotatorien: Notholca striata, Rotifer vulgaris, Actinurus neptunius, Euchlanis triquetra und Synchaeta tremula, alle nur einzeln.

b) Flußboden: grauer Schlick mit faulenden Blättern, dazwischen rote Chironomus-Larven, Lithoglyphus naticoides, Bythinia tentaculata, Valvata piscinalis und Unio pictorum.

XVIII. Rhein bei Coblenz.

a) Treibendes Material: Wie weiter oberhalb mit viel mineralischem Detritus auch mit Sand, viel Sphaerotilus, einzeln Zellulosefasern. Von Diatomaceen wenig Synedra ulna, Nitzschia sigmoidea und Melosira varians, ganz selten nur andere Formen. Oscillatoria rubescens etwas häufiger als oberhalb, bei Coblenz wohl aus der Anreicherung bei Oberwerth stammend. Das Sediment gibt mit Säure starke Kohlensäureentwickelung, die Reaktion auf Schwefelwasserstoff ist nur eine schwache.

b) Flußboden: Kies ohne Besatz, nur auf einigen Stücken Nepheliscocons; Gammarus pulex und Larven von Hydropsyche sind häufig. Die mikroskopische Untersuchung des Darminhaltes einer großen Hydropsychelarve ergibt Sphaerotilus, auch Trichomonas findet sich.

c) Besatz an den Pontons der Schiffsbrücke: Cladophora glomerata mit viel Ulothrix subtilis. Im Besatz der in der Strommitte liegenden Pontons finden sich größere Ablagerungen von Eisenoxydhydrat zwischen den Cladophorabüscheln. Diatomaceen kommen als Besatz dieser Alge jetzt nur einzeln vor; von Protozoen nur einzelne Monaden und Vorticellen sowie Gastrostyla steini.

XIX. Mosel.

A. Rechte Flußseite.

Sichttiefe 21 cm.

Wassertemperatur 1,4° bei 1,0° der Luft.

Reaktion: neutral, nach $^1/_4$ Stunde schwach alkalisch.

Geruch: erst beim Erwärmen auf 40° schwach dumpfig.

Die Mosel führt bräunlich-lehmiges Wasser. Eisschollen treiben nur noch vereinzelt.

a) Plankton: Viel mineralischer auch organischer Detritus, besonders viel pflanzlicher Abfall. Sphaerotilus wird nicht gefunden, doch einzelne Bakterienzoogloeen, auch gelb tingierte Muskelfaserreste garnicht selten; von Algen Oscillatoria maxima (56 μ dick), teils in Zersetzung, einzeln Oscillatoria tenuis, Fäden von Ulothrix zonata und Mesocarpus; von Diatomaceen nur Nitzschia sigmoidea, Ceratoneis arcus und Surirella splendida sowie nicht selten abgestorbene Frusteln anderer Arten, sonst noch Arcella vulgaris, Difflugia globulosa, einzelne Vorticellen, Rotifer vulgaris, Nauplius, Nematoden und Spiculae.

Aus dem Planktonsediment entwickeln sich nach dem Übergießen mit Säure langsam nur einzelne Blasen von Kohlensäure; erst nach 10 Minuten tritt schwache Bräunung des Bleipapiers ein, die Lösung nimmt eine stark gelbe Färbung an durch reichlich vorhandene Eisenmengen.

In 1 ccm geschöpften Moselwassers werden gezählt neben sehr viel feinem mineralischen Detritus: 1 Vorticella, 1 Schale von Navicula, 1 Schale von Nitzschia linearis, 1 Schale von Gomphonema.

b) Flußboden, erster Dretschezug an der Coblenzer Seite: Häuslicher Abfall wie Kartoffelschalen usw., sehr viel Gammarus fluviatilis in älteren und jüngeren Exemplaren, junge Perliden-Larven. Zweiter Zug: Kies mit Neritinaeikapseln, jungen Larven von Hydropsyche und Perliden, auch von Leptocerus. Dritter Zug: Schlacken mit viel Gammarus fluviatilis, einzeln Gammarus pulex, Larven von Hydropsyche, Asellus aquaticus, sowie einige Kotballen. Vierter Zug nahe der Moselmündung: schwärzlicher Schlamm und Kies mit Besatz von Schwefeleisen, der mit Säure viel Schwefelwasserstoff entwickelt, rote Chironomus-Larven und helle von Chironomiden, Nephelis vulgaris und dessen Kokons an Steinen, ebenso junge Dreissensien, Lithoglyphus naticoides, Neritina fluviatilis, Vivipara fasciata und Unio pictorum in größeren und kleineren Individuen, ganz junge Sphaerien, sehr viele Flohkrebse, vorwiegend Gammarus fluviatilis und schließlich Triebe von Potamogeton pectinatus.

B. Moselhafen an der linken Flußseite.

Sichttiefe 49 cm.

a) Plankton: Kein bemerkenswerter Unterschied mit dem Moselplankton, nur weniger mineralischer Detritus und ohne gelbe Muskelfasern; vegetabilischer Abfall ist auch hier häufig, ebenso Textilfasern; von Protozoen Spirostomum ambiguum, Lionotus anser und Aspidisca lynceus.

b) Grund: Grauschwarzer Schlick, etwas stinkend, nach dem Absieben bleiben zurück rote und helle Chironomiden-Larven, junge Sphaerien, Unio pictorum und Lithoglyphus naticoides.

XX. Rheinprofil bei Niederwerth.

A. Linke Flußseite.

Sichttiefe 24 cm.

a) Treibendes Material: Wie weiter oberhalb im Rhein und in der Mosel, ferner Zoogloeen und gelbe Muskelfaserreste, Vorticellen schwärmend und an Stielen, Stiele und kleine lebende Kolonien von Carchesium lachmanni, ein langes Band von Fragilaria capucina, einzelne Nauplien und Chanthocamptus.

b) Flußboden: Grober Kies, teils besetzt mit Hildenbrandia rivularis, Triebe von Potamogeton pectinatus, dazwischen viel Gammarus fluviatilis und pulex, auch Asellus aquaticus, Larven von Hydropsyche, Leptocerus und von Perliden.

C. Rechte Flußseite.

Sichttiefe 25 cm.

a) Treibendes Material: Wie weiter oberhalb auf der rechten Rheinseite, neben viel Sphaerotilus auch noch reichlich Zellulosefasern. Oscillatoria rubescens ist häufiger als oberhalb Oberwerth; einzeln finden sich Pediastrum boryanum, Cosmarium botrytis, Fäden von Ulothrix und Cladophora, Melosira varians, Fragilaria capucina, Cymbella lanceolata, Synedra longissima und delicatissima, Vorticellen, Rotifer u. a.

Das Sediment gibt mit Säure nur eine schwache Schwefelwasserstoffreaktion.

In 1 ccm Rheinwasser werden gezählt: 1 größere Sphaerotilus-Flocke, 2 kleinere, 1 Faden von Beggiatoa, 1 Zellulosefaser, 2 Trichome von Oscillatoria rubescens, 1 Lyngbya limnetica, 1 Colpidium colpoda, 1 junge Arcella, 1 Synedra ulna, 1 Nitzschia linearis, 2 Stephanodiscus hantzschi, 2 Schalen von Nitzschia linearis, 1 Schale von Synedra ulna, 2 Bruchstücke dieser Diatomeen und viel feiner mineralischer Detritus sowie 2 Partikel von undefinierbarem organischem Detritus.

b) Flußboden: Kies mit schlammigem Filz, in dem junge Larven von Chironomiden, viele Larven von Perliden und viel Gammarus pulex und fluviatilis leben.

Um einen Anhalt zu gewinnen, wie groß die Menge der unterhalb Coblenz immer noch stromabwärts treibenden Pilze sei, wurden in einem Eimer 10 Liter Rheinwasser geschöpft und absetzen gelassen. Das nach einer halben Stunde erhaltene Sediment betrug 31 ccm. Nach 3 Minuten langem späterem Zentrifugieren des konservierten Materials betrug das Sediment 10 ccm, nach 10 Minuten 7 ccm, welche sich auch bei längerem Zentrifugieren konstant hielten. Da diese Masse bei der mikroskopischen Untersuchung fast ausschließlich das Bild zusammengedrängter Sphaerotilus-Fäden zeigte, Planktonten darin in nur verschwindender Menge vorhanden waren, da ferner der feine organische Detritus sich in dem über den sedimentierten Pilzen stehenden Wasser im frischen Zustande schwebend erhielt, und endlich auch der Sand im Eimer zurück geblieben war, so dürften diese 7 ccm zum weitaus größten Teile als Pilzmasse anzusehen sein. Dieselbe ergab bei der chemischen Analyse 1,968 g Trockensubstanz und 1,446 g Asche, von welcher 0,953 g in Salzsäure Unlösliches zurückblieb; mineralischer Detritus ist somit nur wenig vorhanden.

An feuchter Pilzmasse würden sich also auf 1 cbm 700 ccm berechnen, während in der Elbe[1]) im November an der Stelle der stärksten Verunreinigung bei Dresden sich nur 7 ccm Sphaerotilus bestimmen ließen. Die Entstehungsherde des Sphaerotilus sind aber fast 150 km oberhalb der untersuchten Stelle am Rhein und im bayerischen Maingebiet zu suchen. Die Mengen der im Niederrhein noch zu Tal treibenden Pilzmassen sind demnach sehr erheblich! Im Vergleich zu den treibenden Sphaerotilusmassen sei angegeben, daß der Rhein bei Coblenz durchschnittlich im Sommer und Winter 20 bis 25 mg in 1 Liter gelöste organische Substanz enthält (berechnet aus dem Sauerstoffverbrauch multipliziert mit 4); das Trockengewicht des Sphaerotilus würde bei seinem Aschengehalt von ungefähr 8% während der Januaruntersuchung 56 mg im Liter betragen, also mehr als die doppelte Menge an gelöster organischer Substanz.

[1]) Mitteilungen aus der Königlichen Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung 1907, Heft 9, Seite 56.

Zusammenfassung der auf der Rheinstrecke von Aßmannshausen bis unterhalb Coblenz gewonnenen Resultate.

In der Zusammensetzung des Planktons machten sich bei der diesmaligen Untersuchung auf der Strecke von Aßmannshausen bis Niederwerth rechts und links nur sehr geringe Unterschiede bemerkbar, da die sonst typischen Planktonten fehlten. Sphaerotilusmassen trieben gleichmäßig an den beiden Rheinseiten; ebensowenig wie im Dezember war diesmal bei Coblenz eine Verminderung der zutreibenden Pilzflocken zu bemerken; während oberhalb Mainz dieselben noch weiße Spitzen, also frische Bildung aufwiesen, waren die bei Coblenz gefischten Flocken mehr oder weniger in Zersetzung begriffen, ganz besonders die im Dretschebeutel gehobenen. Die Menge des durch Zentrifugieren zusammengedrängten Sphaerotilus wurde im Rhein weit unterhalb der Verunreinigungsquelle als 100 mal so groß festgestellt wie in der Elbe an der am stärksten Sphaerotilus führenden Stelle.

Die Anreicherung des Wassers mit Schwefeleisen erwies sich auf dieser Strecke viel stärker als bei der vorhergehenden Winteruntersuchung, wahrscheinlich deshalb, weil sich von dem aus dem Main durch die Niederlegung der Wehre — im Anfang Januar — fortgespülten, stark schwefeleisenhaltigen Schlamm im Rhein viele Partikel noch schwebend erhalten haben oder nach vorhergegangener teilweiser Sedimentierung durch das Ende Januar steigende Wasser wieder mit fortgerissen sind. Vegetationen von Schwefelpilzen und Mycelfäden von Schimmelpilzen waren häufiger als früher; auch deren Bildung ist wohl durch den Mainschlamm veranlaßt. So machte sich in der kälteren Jahreszeit, während welcher die organische, stickstoffhaltige Substanz nicht oder nur wenig in grüne oder blaugrüne Algen, sondern fast ausschließlich in Pilzmassen umgesetzt wird, eine Verunreinigung eben durch diese Pilze und deren Fäulnisprodukte (zumal bei niedrigem Wasserstande) viel stärker bemerkbar als in den wärmeren Monaten. Durch das schnelle Stromabwärtstreiben der Sphaerotilusmassen, die solchen Verunreinigungen ihre Entstehung verdanken, werden auch weit unterhalb der Verunreinigungsquelle gelegene Flußstrecken in Mitleidenschaft gezogen. Die Anreicherung des Rheins mit organischer Substanz scheint, wie schon öfters betont, viel mehr durch die oberhalb meiner Untersuchungsstrecke gelegenen Holzstofffabriken, als durch die Abwässer der großen Städte bewirkt zu werden.

Die durch die am Rhein liegenden kleineren Städte verursachten Verunreinigungen kommen dagegen kaum in Betracht. Diese Abwässer waren wieder derselben Art, wie sie sich auch früher bei niedrigen Wasserständen zeigten, sie waren alkalisch, schwach stinkend, geringe Küchenabfälle enthaltend, jedoch ohne Fäkalreste; sie verursachen nur eine geringe lokale Verunreinigung. Das Gleiche ist zu sagen von den durch die Schiffsbevölkerung in den Häfen bewirkten Verschmutzungen, nur daß hier Leitfragmente für Fäkalien festgestellt werden konnten. Makroskopische Vertreter der Tiefenfauna tragen nicht nur unterhalb der größeren und kleineren Städte für die Beseitigung solcher Abfallstoffe bei, sondern sie lebten auch in der Strommitte — mit Ausnahmen solcher Stellen, wo sich wie bei Oberspay größere Sandmassen an-

gehäuft hatten — von sich zu Boden setzenden und in Fäulnis übergehenden Pilzflocken.

Hingegen versagte bei dem während der kalten Jahreszeit längere Zeit anhaltenden niedrigen Wasserstande der andere biologische Faktor der selbstreinigenden Kraft des Flusses, nämlich das Plankton, welches im Rheinstrome zur Zeit der Untersuchung nur aus einzelnen Vertretern bestand. Die sonst typischen Formen der Altrheine und der stillen Buchten fehlten fast gänzlich im Flusse, nur von Kieselalgen trieben bei steigendem Wasser Schalen den Strom hinunter. Pflänzchen, welche dem Gewässer vermöge ihrer organischen Ernährungsweise viel organische Substanz entziehen und vermöge ihrer Kohlenstoffassimilation reichlich Sauerstoff produzieren und das Wasser durchlüften, trieben wohl ausschließlich aus den Schweizer Seen zu; immerhin wurden bei Niederwerth in 1 ccm Rheinwasser 2 Trichome von Oscillatoria rubescens gezählt, so daß in 1 cbm 2 Millionen derselben vorhanden sein würden. Die Verbesserung des Wassers durch Verdünnung mit Meteorwässern (namentlich mit den vom Oberrhein durch größere Seebecken kommenden), war Ende Januar ausgeschaltet. Es trieb nur aus der nächsten Umgebung Regen- und Schneeschmelzwasser zu, welches noch durch Faulschlamm enthaltendes Grundeis verschlechtert wurde. Demnach liegen die Verhältnisse für den Rhein am ungünstigsten während der niedrigen Wasserstände in der kalten Jahreszeit. Eine hierbei auftretende Erscheinung war bemerkenswert, nämlich die reiche Bildung von Luft- und Wassermoosen an den hohen zur Zeit der Untersuchung über Wasser liegenden Ufermauern; es traten hier vorzugsweise auf Cinclidotus fontinaloides und Barbula fallax, während das sonst im Rhein so häufige Wassermoos Fontinalis antipyretica stark zurückgegangen war. Bei steigendem Wasser vermögen diese Moose durch ihre assimilatorische Tätigkeit schneller reinigend zu wirken, als die dann erst langsam wieder wachsenden Arten der Fadenalgen, die bei Bacharach und an anderen Stellen meist verstümmelt aufgefunden wurden.

Erwähnenswert wäre ferner noch, daß sich die saproben Protozoen in der Rheintalstrecke (Bacharach bis Coblenz) erheblich vermindert hatten, während sie in der Rheingaustrecke von Biebrich bis Rüdesheim häufig waren. Die Ursache muß teilweise in der Verunreinigung durch die Abwässer der Stadt Wiesbaden gesucht werden. Im allgemeinen wird durch die direkt in den Fluß geleiteten Abwässer von mittelgroßen Städten die bakterienfressende Mikrofauna stark vermehrt, namentlich wenn die Abwässer schon einen längeren Siellauf genommen haben, während die Abläufe der landwirtschaftlichen und Holzstoffabriken fast ausschließlich zur Pilzbildung Veranlassung geben.

Die Nebenflüsse des Rheins zeigten mit Ausnahme des Mains ebensowenig wie früher Pilzbildungen, die Mosel erwies sich jedoch mehr verunreinigt als bei den früheren Untersuchungen.

Schließlich sei noch bemerkt, daß nach der Renkschen Methode[1]) sogenannte Filterbilder aus 200 ccm Rheinwasser hergestellt wurden und zwar an den wichtigsten Untersuchungsstellen von oberhalb Mainz an bis Niederwerth. Charakteristische Unter-

[1]) Vortrag auf dem XIV. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie. Berlin 1907.

schiede der verschiedenen Entnahmestellen, wie sie ein Blick durch das Mikroskop auf das frische Plankton oder ein Blick mit der Lupe auf die nur 1 ccm Rheinwasser enthaltende Planktonkammer ergab, waren nach der Filtermethode nicht zu erzielen. Auch die mit 200 ccm Wasser aus den 5 größeren Nebenflüssen des Rheins erhaltenen Bilder zeigten mit Ausnahme des viel Schwefeleisen enthaltenden Mainwassers keine differente Färbung.

Die Wassertemperatur betrug im Durchschnitt 2,2° bei durchschnittlich 3,3° der Luft. Die Sichttiefe differierte bei Beginn und bei Beendigung der Untersuchung so sehr, daß die Angabe von Durchschnittszahlen ohne Wert ist.

Die Erhöhung der Desinfektionskraft der Phenole durch Zusatz von Säuren (Phenostal, Kresoloxalsäure).

Von

Dr. E. Hailer,

ständigem Mitarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Das Herrn Dr. Schneider in Hamburg erteilte DRP. Nr. 189960 schützt ein Verfahren zur Darstellung von Desinfektionsmitteln aus Gemischen von Oxalsäure mit Phenolen, Phenolderivaten oder Aldehyden[1]). Diese Desinfektionsmittel können nach der Patentbeschreibung in Form von Lösungen, Pulvern oder Tabletten in den Handel gebracht werden. Zur Herstellung der Mittel in fester Form soll ganz oder annähernd wasserfreie Oxalsäure mit 25 % ihres Gewichts an Rohkresol bespritzt werden; das durch mehrtägiges Stehen trocken werdende Gemisch kann dann in Tabletten gepreßt werden. Auch bei entsprechender Verwendung geschmolzener Karbolsäure werden nach Angabe der Beschreibung trockene Pulver erhalten. Die Produkte seien leicht in Wasser löslich; durch das Zusammenwirken der beiden Stoffe (Oxalsäure und Phenol bezw. Aldehyd) finde — wie an der Hand von Protokollen gezeigt wird — eine erhebliche Steigerung der Desinfektionskraft statt und zwar werde die desinfizierende Wirkung des Phenols durch Oxalsäure in höherem Maße gesteigert als durch Schwefelsäure.

Der Vorzug der Handlichkeit und leichten Dosierbarkeit des Desinfektionsmittels wäre somit vereinigt mit einer starken Steigerung der desinfizierenden Wirkung der Phenole.

Der Gedanke, Phenole in der leicht dosierbaren Pulver- oder Tablettenform in den Handel zu bringen, ist nicht neu; Gemische von Teerölen mit anorganischem Material wie Kalk, Gips, Schlemmkreide, Borsäureanhydrid, Magnesiumoxyd, entwässerten Salzen (Borax, Alaun, pyro- und metaphosphorsauren Salzen) wurden früher vielfach als „Desinfektionspulver" vorgeschlagen. Auch mehrere Patente schützen derartige Präparate: DRP. Nr. 38068 ein Desinfektionsmittel in Pastillenform, das durch Einwirkung von Nordhäuser Schwefelsäure auf komprimiertes Phenol bei nicht mehr als 80° und Eingießen in Alkohol nach erfolgter Abkühlung erhalten wird und aus orthophenolsulfosaurem Äthyl, ortho-Phenolsulfosäure und Äthylschwefelsäure bestehen soll, im Wasser leicht löslich ist, aber Feuchtigkeit aus der Luft anzieht; ferner die deut-

[1]) Patentschrift ausgegeben 11. Oktober 1907; Patent datiert vom 17. Februar 1906.

schen Patente 44528, 55624, 101393 und 104571 Präparate, die aus Gemischen von Phenol mit Borsäure oder Borax bestehen.

Eingebürgert haben sich diese Präparate anscheinend nicht.

Von Dr. Schneider in Hamburg war nun dem Kaiserlichen Gesundheitsamt ein als „Kresoloxalsäure" bezeichnetes Präparat zugesandt worden, das durch Vermischen von Kresol mit wasserfreier Oxalsäure hergestellt ist (nach Angabe des begleitenden Schreibens); einige Zeit später wurde unter dem Namen „Phenostal (Diphenyloxalester)"[1]) von der Firma Schülke und Mayr in Hamburg ein Desinfektionsmittel und Antiseptikum in den Handel gebracht; beide Präparate fallen der Herstellung und Zusammensetzung nach unter das oben angeführte Patent Nr. 189960. Die Kresoloxalsäure ist bis jetzt anscheinend noch nicht im Handel zu haben.

Da durch die Patentschrift und die Ankündigungen des Phenostals diesen Präparaten eine wesentlich höhere Desinfektionskraft zugeschrieben wird, als den reinen Phenolen, und die Pulver- bezw. Tablettenform ohne Frage gegenüber den anderen Verwendungsformen der Phenole für einzelne Zwecke Vorteile bietet, schien eine nähere Untersuchung dieser Stoffe von Interesse.

Chemische Zusammensetzung.

Das in Büchsen in den Handel gebrachte Phenostalpulver ist eine weiße krümliche Masse; die gefärbten Tabletten sind von festem Gefüge. Die Kresoloxalsäure bildete bei der Übersendung ein grünlich-weißes Pulver, das sich in der verschlossenen Flasche allmählich rötlich färbte.

Nach H. Schneider[2]) sind in dem Phenostal zwei Moleküle der Karbolsäure durch ein Molekül Oxalsäure zu einer labilen, nicht hygroskopischen chemischen Verbindung vom Schmelzpunkt 122—124° vereinigt, die 32% Oxalsäure und daher 68% Phenol enthalte. Der Körper ist in der Arbeit als Diphenyloxalester bezeichnet.

Nach einer Analyse von E. Seel[3]) enthalten die Diphenyloxalestertabletten 68,7% Phenol, was einem Gehalt von 88,44% Diphenyloxalester entspreche, während sich aus dem gefundenen — nicht näher angegebenen — Oxalsäuregehalt ein Gehalt von 94,7 und 95,4% Diphenyloxalester berechne; die mangelnde Übereinstimmung zwischen Oxalsäure- und Phenolgehalt mache das Vorhandensein einiger Prozente Monophenyloxalester neben dem Diphenyloxalester wahrscheinlich; außerdem seien vorhanden 2,9% Feuchtigkeit, und 0,106% hinterbleiben beim Verbrennen als Asche. Fr. Croner und H. Schindler[4]) sprechen das Phenostal auf Grund seines chemischen Verhaltens als Orthooxalsäurephenylester an.

Bevor die chemische Untersuchung der Präparate in Angrifi genommen wurde, war zunächst durch Kontrollversuche festzustellen, ob die Phenol- und Oxalsäure-

[1]) s. Nachschrift.

[2]) H. Schneider, „Diphenyloxalester. Karbolsäure in haltbarer Tablettenform und mit erheblich erhöhter Desinfektionswirkung." Hyg. Zentralbl. 4, 201 (1908).

[3]) E. Seel, „Über Lysol- und Karboltabletten und die Verwendbarkeit des Raschigschen Verfahrens zur Bestimmung von Metakresol in Kresoltabletten." Ber. d. Deutschen Pharmazeut. Gesellsch. 18, 421 (1908).

[4]) Fr. Croner und H. Schindler, „Karbolsäuretabletten (Diphenyloxalsäureester), ein neues Desinfektionsmittel." Desinfektion I, 47 (1908).

bestimmungen nach den üblichen Verfahren in Lösungen ausführbar sind, die beide Stoffe enthalten.

Beeinträchtigen Phenol und Kresol die acidimetrische Oxalsäuretitration?

10 ccm Oxalsäurelösung von bestimmtem Gehalt brauchten, mit Phenolphthalein titriert 8,9 ccm $^{n}/_{10}$ Kalilauge bis zum Eintritt der Rosafärbung, 10 ccm derselben Oxalsäurelösung + 10 ccm $^{n}/_{10}$ Phenollösung im Wasserbad erhitzt 9,6 ccm $^{n}/_{10}$ Kalilauge.

Die Acidimetrie ist demnach für die Feststellung des Gehalts einer Oxalsäurelösung bei Phenolgegenwart nicht anwendbar.

Dagegen ergab ein Kontrollversuch, daß die acidimetrische Bestimmung der Oxalsäure durch Gegenwart von Kresolen beim Arbeiten in der Hitze nicht beeinträchtigt wird.

Als nicht ausführbar erwies sich die oxydimetrische Bestimmung der Oxalsäure (mit Kaliumpermanganat) bei Anwesenheit von Phenol bezw. Kresolen.

Beeinträchtigen Phenol und Kresole die gravimetrische Bestimmung der Oxalsäure?

a) Phenol. 25 ccm etwa $^{n}/_{10}$ Oxalsäure ergaben (jeweils zwei Bestimmungen) bei Ausfällung mit Chlorcalcium aus essigsaurer Lösung 0,0708 und 0,0703 g Calciumoxyd, entsprechend 0,113 g Oxalsäure;

25 ccm derselben Oxalsäurelösung + 10 ccm $^{n}/_{10}$ Phenollösung 0,0708 und 0,070 g Calciumoxyd, entsprechend 0,1138 bezw. 0,1125 g Oxalsäure.

b) Kresole. 10 ccm einer etwa $^{n}/_{10}$ Oxalsäurelösung ergaben 0,028 und 0,0286 g Calciumoxyd;

10 ccm derselben Oxalsäurelösung + 0,5 ccm einer 2 %igen Trikresollösung 0,0285 und 0,0278 g Calciumoxyd.

Die gewichtsanalytische Bestimmung der Oxalsäure aus essigsaurer Lösung in Form von Calciumoxyd wird demnach durch die Gegenwart von Phenol und von Kresolen nicht gestört.

Beeinträchtigt Anwesenheit von Oxalsäure die Titration von Phenol und Kresolen durch Kaliumbromat?

a) Direkte Titration. 10 ccm $^{n}/_{10}$ Phenollösung + 12 ccm N-Kaliumbromidlösung + 10 ccm konz. Salzsäure + 50 ccm destilliertes Wasser verbrauchten bis zum Auftreten freien Broms (Töpfelanalyse auf Jodkaliumstärkepapier) 10,1 und 10,1 ccm $^{n}/_{10}$ Kaliumbromatlösung; wurden zu der angegebenen Lösung 10 ccm $^{n}/_{10}$ Oxalsäurelösung zugegeben, so wurden 10,0 und 10,1 ccm Kaliumbromatlösung gebraucht.

b) Koppeschaarsche Bestimmung. 10 ccm $^{n}/_{10}$ Phenollösung + 11 ccm N-Kaliumbromidlösung + 10,5 ccm $^{n}/_{10}$ Kaliumbromatlösung + 5 ccm konz. Schwefelsäure nach 10 Min. Stehen und 5 Min. Schütteln durch Seesand und Glaswolle in Jodkaliumlösung einfiltriert (2 parallele Bestimmungen), diese auf 250 ccm aufgefüllt und je 25 ccm hiervon mit $^{n}/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung titriert brauchten bis zum Verschwinden freien Jods

I.	0,2	0,2	0,15 ccm
II.	0,2	0,2	0,2 „;

waren zu der Phenollösung 10 ccm $^{n}/_{10}$ Oxalsäurelösung zugesetzt worden, so wurden verbraucht 0,2, 0,2, 0,2 ccm der Thiosulfatlösung.

Ein gleiches Ergebnis hatte die Titration einer para-Kresollösung mit und ohne Zusatz von $^{n}/_{10}$ Oxalsäurelösung.

Die Anwesenheit von Oxalsäure stört somit die Titration von Phenol und Kresolen nach dem direkten und dem Koppeschaarschen Verfahren nicht.

Analyse des Phenostals.

Es wurden 14,844 g Phenostalpulver (Lösung I) und drei Phenostaltabletten im Gesamtgewicht von 15,7715 (Lösung II) je in Wasser gelöst und auf 1 Liter aufgefüllt[1]. Die nachstehenden Bestimmungen sind mit diesen Lösungen ausgeführt.

Aus zweimal je 25 ccm der Phenostalpulver- und Tablettenlösung wurde mit Chlorcalcium aus essigsaurer Lösung die Oxalsäure ausgefällt; gefunden wurden

0,0742 g Calciumoxyd entspr. 0,1193 g Oxalsäure	} = 4,772 g = 32,15 % Oxalsäure in der angewandten Menge Phenostalpulver	
0,0741 „ „ „ 0,1192 „ „		
0,0914 „ „ „ 0,1468 „ „	} = 5,85 g = 37,1 % Oxalsäure in der angewandten Menge Phenostaltabletten.	
0,0907 „ „ „ 0,1457 „ „		

Phenoltitration direkt: 10 ccm obiger Lösungen + 10 ccm N-Kaliumbromidlösung + 10 ccm konz. Salzsäure;

bei Phenostalpulverlösung gebraucht 9,9   9,9 ccm n/10 Kaliumbromatlösung
bei der Tablettenlösung „ 10,1   10,1 „ „ „

Phenoltitration nach Koppeschaar: 10 ccm obiger Lösungen + 11 ccm N-Kaliumbromidlösung + 10,5 ccm Kaliumbromatlösung + 5 ccm konz. Schwefelsäure, wie oben angegeben behandelt, brauchten bei der Titration mit n/10 Natriumthiosulfatlösung:

Pulver:	0,2	0,25	0,25 ccm
Tabletten:	0,2	0,2	0,2 „ .

Die Ergebnisse beider Verfahren stehen in guter Übereinstimmung; es berechnen sich daraus unter der Annahme, daß von einem Molekül Phenol 3 Atome Brom aufgenommen werden, in den angewandten

14,844 g Phenostalpulver 9,306 g Phenol = 62,7 %
15,7715 g Tabletten 9,494 „ „ = 60,2 „ .

Bestünde das Phenostal aus reinem Diphenyl-ortho-oxalsäureester, so müßten gefunden werden[2] . . . . 32,37 % Oxalsäure und 67,63 % Phenol, in dem Phenostalpulver aber sind (s. o.)

vorhanden . . . . 32,15 „ „ „ 62,7 „ „ ,
in den Tabletten . . . . 37,1 „ „ „ 60,2 „ „ ,

mithin sind im Pulver an Verunreinigungen (anderen Stoffen als Oxalsäure und Phenol) vorhanden 5,15 %, in den Tabletten 2,7 %. Rechnen wir den Gehalt an diesen anderen Stoffen ab, so beträgt die aus den gefundenen Werten berechnete Zusammensetzung des Präparats

beim Pulver 33,89 % Oxalsäure und 66,11 % Phenol
bei den Tabletten 38,16 „ „ „ 61,84 „ „ .

Es ist demnach beim Pulver etwa 1,5 %, bei den Tabletten 5,8 % Oxalsäure mehr vorhanden, als der Zusammensetzung des ortho-Diphenyloxalats entspricht, und demzufolge eine diesem Mehrgehalt entsprechende Menge Phenol zu wenig.

Analyse der Kresoloxalsäure.

14,001 g der Verbindung in Wasser gelöst und auf 500 ccm aufgefüllt.

10 ccm hiervon mit Phenolphthalein als Indikator in der Hitze titriert, brauchten (2 Bestimmungen) 35,0 ccm n/10 Natronlauge; daraus berechnen sich 7,875 g Oxalsäure in der angewandten Substanz = 56,2 %.

Der durch Titration und Gewichtsanalyse festgestellte Gehalt zweier anderer Proben des Präparats hatte an Oxalsäure 57,05 bezw. 56,5 % ergeben.

---

[1]) Die Phenostalpulverprobe war aus der Mitte der Büchse entnommen. Die Lösungen waren frei von Schwefel-, Salz- und Ameisensäure bezw. deren Salzen.

[2]) Würde die Zusammensetzung des Präparats der Bezeichnung als Diphenyloxalester entsprechen, so müßten 100 g davon bei der Zersetzung in Säure und Phenol 77,7 g Phenol und 37,1 g Oxalsäure geben.

Feststellung des Kresolgehalts.

10 ccm obiger Lösung, nach Zusatz von Kaliumbromid und Salzsäure direkt titriert, brauchten 4,9, 4,9, 4,8 ccm $^{n}/_{10}$ Kaliumbromatlösung;

10 ccm der Lösung nach Koppeschaar, wie bei Phenol angegeben, unter Zusatz von 8 ccm $^{n}/_{10}$ Kaliumbromatlösung behandelt, brauchten bei zwei parallelen Versuchen zur Rücktitration des ausgeschiedenen Jods in 25 ccm des auf 250 ccm aufgefüllten Reaktionsgemisches (je drei Bestimmungen in zwei parallelen Versuchsreihen) jeweils 1,2 ccm $^{n}/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung.

Chemisches Verhalten des Präparates.

Verhalten des Phenostals beim Stehen an der Luft. 7,948 g Phenostalpulver, in etwa 4 mm dicker Schicht auf einem Uhrglas ausgebreitet und vor Staub und Licht geschützt offen in einem Schrank untergebracht, verloren

während 12 Tagen 1,1785 g = 14,8 %
„ 15 „ 1,475 „ = 18,56 „ ihres Gewichts.

Der Rückstand von 6,473 g wurde in Wasser gelöst und zu 500 ccm aufgefüllt; zwei Proben von je 25 ccm der Lösung gaben bei der Oxalsäurebestimmung 0,0818 bezw. 0,0817 g Calciumoxyd, was einem Oxalsäuregehalt von 32,95 % in der zum Versuch angewandten Substanzmenge und von 40,5 % in der nach 15tägigem Stehen noch vorhandenen Menge entspricht. Zweimal je 10 ccm der Lösung, direkt mit $^{n}/_{10}$-Kaliumbromatlösung bis zum Eintritt der Jodstärkereaktion titriert brauchten 7,2 ccm der Bromatlösung; der Phenolgehalt betrug somit auf die ursprünglich angewandte Substanzmenge berechnet 42,57 %, auf die nach 15 Tagen noch vorhandene Menge 52,3 %. Gegenüber dem Gehalt einer Durchschnittsprobe des Präparats von 62,7 % Phenol und 32,15 % Oxalsäure hatte das Phenostal beim offenen Stehen an der Luft demnach etwa 20 % Phenol verloren, während der Oxalsäuregehalt der gleiche geblieben war; der Phenolgehalt der zurückgebliebenen Substanzmenge war somit um etwa 10 % geringer, der Oxalsäuregehalt um 10 % höher als in dem ursprünglichen Präparat.

Verhalten des Phenostals im Vakuumexsikkator.

8,7939 g Phenostalpulver bei einem Druck von 20—30 mm während der ersten sieben Tage über Phosphorsäureanhydrid, von da ab über konzentrierter Schwefelsäure und Phosphorsäureanhydrid gehalten, verloren:

nach 1 tägigem Stehen	0,3426	g =	3,9	%
in 4 Tagen	0,5514	„ =	6,27	„
„ 9 „	0,581	„ =	6,6	„
„ 19 „	0,8317	„ =	9,45	„
„ 34 „	1,4033	„ =	15,96	„

an Gewicht.

Der Rückstand von 7,3906 g, in Wasser gelöst und auf 500 ccm aufgefüllt, ergab in zwei Proben von je 25 ccm 0,0931 und 0,0933 g Calciumoxyd, entsprechend einem Gehalt von 33,9 % Oxalsäure in der ursprünglich angewandten Substanz und von 40,4 % im Rückstand.

Der Phenolgehalt betrug, auf die ursprünglich angewandte Substanz berechnet — 10 ccm der Lösung brauchten bei direkter Titration 9,2 ccm $^{n}/_{10}$ Kaliumbromatlösung —, noch 50,2 %.

Auch hier war der Oxalsäuregehalt derselbe geblieben, die Gewichtsabnahme also im wesentlichen auf Kosten des Phenols erfolgt (durchschnittliche Zusammensetzung des Phenostals: 62,7 % Phenol und 32,15 % Oxalsäure).

Verhalten der Kresoloxalsäure im Vakuumexsikkator.

4,2624 g Kresoloxalsäure, in einer Platinschale unter den Bedingungen des vorstehenden Versuchs im Vakuumexsikkator gehalten, verloren 1,8394 g = 38,8 % an Gewicht. Der Rückstand von 2,423 g in Wasser gelöst und zu 250 ccm aufgefüllt ergab, auf die ursprüngliche Substanzmenge berechnet, einen Gehalt von 54,3 % Oxalsäure (25 ccm lieferten 0,1439 g Calciumoxyd; 10 ccm brauchten 20,8 ccm $^{n}/_{10}$ Kalilauge). Kresol war durch Bromzusatz nicht mehr nachzuweisen, hatte sich demnach völlig verflüchtigt; der 2,423 g wiegende Rückstand enthielt 2,312 g Oxalsäure.

Wie verhalten sich Phenol und para-Kresol im Vakuumexsikkator?

4,2698 g Phenol, in einer Platinschale im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure gehalten, verflüchtigte sich innerhalb 11 Tage bis auf einen minimalen, 0,2 mg wiegenden staubförmigen Rückstand. 3,9362 g para-Kresol, in einem Platintiegel — also mit geringer Oberfläche — ebensolange und unter den gleichen Umständen aufbewahrt, verlor 1,8442 g = 47 % seines Gewichts. Phenol und para-Kresol sind demnach in erheblichem Maße im Vakuum flüchtig, was bei analytischen Arbeiten wohl nicht immer gebührend berücksichtigt wird.

Verhalten des Phenostals gegenüber Petroläther.

19,577 g Phenostalpulver wurden in einer Soxhlethülse mit Petroläther in der Weise extrahiert, daß stets nur im Kühler abgekühlter Petroläther, nicht der heiße Dampf in Berührung mit dem Pulver kam, die Temperatur der extrahierenden Lösung also nie über 30° stieg; die Substanz verlor bei 20stündigem Extrahieren 4,7225 g = 23,1 % an Gewicht. Das Pulver wurde hierauf vorsichtig mit ausgekochtem und geglühtem Seesand verrieben und nochmals 20 Stunden mit Petroläther ausgezogen. Die zu extrahierende Mischung wurde trotz des Seesandzusatzes sichtlich nicht gleichmäßig vom Petroläther durchdrungen, vielmehr bildeten sich in der Masse Risse und Löcher, durch die der Petroläther von der Oberfläche abfloß. Nach 40stündigem Extrahieren wurde der Rückstand mit Petroläther gut ausgewaschen, im Vakuum über Paraffin vom Petroläther befreit, in Wasser aufgeschwemmt, vom Seesand abfiltriert und die Lösung auf 500 ccm aufgefüllt.

Die Oxalsäurebestimmung ergab (in zwei parallelen Versuchen 0,2001 bezw. 0,2004 g Calciumoxyd in je 25 ccm Lösung) einen Gehalt von 6,434 g Oxalsäure gleich 32,86 % der ursprünglich angewandten Menge. Der noch vorhandene Phenolgehalt — 10 ccm der Lösung brauchten bei direkter Titration 7,1 ccm $^{n}/_{10}$ Kaliumbromatlösung — betrug 3,337 g gleich 17,0 % des angewandten Phenostals.

Während in einer Durchschnittsprobe des ursprünglich angewandten Phenostalpulvers 62,7 % Phenol und 32,15 % Oxalsäure vorhanden waren, betrug der Gehalt nach der Petrolätherextraktion auf die ursprüngliche Substanz berechnet noch 17,0 % Phenol und 32,86 % Oxalsäure.

Während auch hier die — in Petroläther unlösliche — Oxalsäure quantitativ zurückgeblieben war, betrug der Phenolverlust etwa 45,7 %.

Das Petrolätherextrakt wurde vorsichtig etwas eingedunstet, dann im Schütteltrichter sechsmal mit 5%iger Natronlauge extrahiert, das alkalische Extrakt mit Äther vom Petroläther befreit und der Äther durch Durchsaugen von Luft unter schwacher Erwärmung beseitigt; die Lösung wurde dann auf 500 ccm aufgefüllt.

10 ccm dieser Lösung brauchten bei direkter Titration 16,7 ccm $^n/_{10}$ Kaliumbromatlösung, entsprechend 7,849 g Phenol, die 40,1 % des angewandten Phenostals entsprechen. Oxalsäure war im Petrolätherextrakt nicht nachzuweisen.

Das von der Fabrik als Diphenyloxalester bezeichnete Präparat zersetzt sich demnach an der Luft und im luftleeren Raum unter Abgabe von Phenol; ebenso wirkt Petroläther zersetzend auf den Körper: Phenol geht in Lösung, während Oxalsäure zurückbleibt. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch die Kresoloxalsäure.

In der Literatur finden sich nun zwei Verbindungen der Oxalsäure mit Phenol beschrieben:

das zuerst von Nencki[1]) aus wasserfreier Oxalsäure, Phenol und Phosphoroxychlorid bei 115—130° dargestellt wurde. Es läßt sich aus Alkohol umkristallisieren, verliert im Vakuum nicht an Gewicht, ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, wenig in Äther, schmilzt bei 130° und wird durch längeres Kochen mit Wasser verseift.

C. A. Bischoff und A. v. Hedenström[2]) fanden die Verseifungsgeschwindigkeit des Esters durch Natronlauge in Azetonlösung verhältnismäßig gering; es waren verseift in 5 Min. 53 %, in 10 Min. 58 %, in 40 Min. 70 % des Esters. Der Ester, dessen Schmelzpunkt nach den Verfassern bei 136° liegt, destilliert unter Luftdruck fast unzersetzt bei 320—325°, bei 15 mm Druck ohne Zersetzung bei 190—191°.

[1]) Nencki, „Die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen", Journ. f. prakt. Chem. 25, 273 (1882).

[2]) C. A. Bischoff und A. v. Hedenström, „Über aromatische Ester der Kohlensäure und Oxalsäure", Berichte der Deutschen Chem. Gesellsch. 35, 3431 (1902); dieselben, „Umsetzungen des Diphenyloxalats", ebendort S. 3437; dieselben, „Über Oxalsäurearylester", ebendort S. 3443.

der von Claparède und Smith[1]) und Staub und Smith[2]) als ein Nebenprodukt der Aurinfabrikation beschrieben und hierauf im Laboratorium aus den Komponenten auf verschiedene Weise hergestellt wurde; er zersetzt sich schon mit Wasser, Alkohol und Äther; bei Behandlung mit Äther geht Phenol in Lösung, während Oxalsäure zurückbleibt; er ist auch unter vermindertem Druck nicht unzersetzt destillierbar.

Von Bischoff und v. Hedenström (s. o.) wurden in einer der Gewinnung des Diphenyloxalats entsprechenden Weise auch die drei Kresylester der Oxalsäure (von o-, m- und p-Kresol) hergestellt, die in Alkohol, Äther und Benzol ohne Zersetzung löslich sind, unter Luftdruck unzersetzt destillieren, durch Wasser auch in der Hitze nur schwer, leicht dagegen durch Natronlauge verseift werden.

Dem Diphenyl-ortho-oxalester analoge ortho-Oxalester des o-Kresols konnten von Bischoff und v. Hedenström nicht erhalten werden; beim Auskochen der Reaktionsmasse mit Ligroin hinterblieb Oxalsäure, während das Kresol in das Ligroin überging.

Daß das Phenostal nicht identisch ist mit dem zuerst von Nencki (s. o.) dargestellten sehr stabilen Diphenyloxalsäureester geht aus einem Vergleich der angegebenen Eigenschaften unmittelbar hervor. Dagegen besteht — worauf Croner und Schindler schon hinwiesen — eine weitgehende Übereinstimmung in der Darstellung und im chemischen Verhalten zwischen dem von Smith und Staub (s. o.) gewonnenen, als Diphenylester der ortho-Oxalsäure bezeichneten Körper und dem Phenostal; und ein unmittelbarer Vergleich der Eigenschaften des nach Staub und Smith hergestellten Körpers und des Phenostals machte die Identität der beiden Substanzen zweifellos.

Ist aber schon das oben skizzierte verschiedene Verhalten der beiden Oxalsäurephenylester — des normalen und des ortho-Esters — sehr auffallend, so erscheint es durch die mitgeteilten Beobachtungen — die Abspaltung von Phenol beim Liegen an der Luft und im luftleeren Raum, die Zersetzung durch ein so indifferentes Medium wie Petroläther schon bei niedriger Temperatur — völlig ausgeschlossen, daß es sich bei dem sogenannten Diphenyl-ortho-oxalester tatsächlich um einen Ester handelt.

Das ganze Verhalten des Körpers — die leichte Löslichkeit in Wasser unmittelbar nach dem Einbringen unter Bildung einer Phenol- und Oxalsäurelösung, die Abgabe von Phenol beim Stehen an der Luft und im luftleeren Raum, die Spaltung selbst durch indifferente Lösungsmittel, wie Alkohol, Äther, Petroläther — spricht dafür, daß es sich nicht um einen Ester, sondern um eine Molekularverbindung von einem Molekül Oxalsäure mit zwei Molekülen Phenol handelt, in der das Phenol die Rolle von Kristallwasser spielt: $C_2O_4H_2 + 2\,C_6H_5OH$ entsprechend der kristallisierten Oxalsäure $C_2O_4H_2 + 2\,H_2O$.

Für die Desinfektionswirkung ist der Charakter der Verbindung — ob Ester, ob Kristallphenolverbindung — freilich gleichgültig, da es sich so wie so in wässeriger Lösung nur um ein Nebeneinander von Oxalsäure und Phenol handelt.

---

[1]) Claparède und Smith, „On a Bye-product of the manufacture of Aurin", Journ. of the Chem. Soc. 43, 358 (1883).

[2]) A. Staub und W. Smith, „Über ein Nebenprodukt der Aurinfabrikation", Ber. d. D. Chem. Ges. 17, 1740 (1884).

Dagegen ist es für die praktische Beurteilung des Präparats selbstverständlich von Bedeutung, ob es sich um eine wirkliche Verbindung mit Konstanz der Eigenschaften und der Zusammensetzung handelt, deren Gehalt an ihren Komponenten nicht geprüft zu werden braucht, oder um eine labile Substanz, deren Zusammensetzung mit dem Herstellungsverfahren und den verwandten Mengen von Ausgangsmaterialien wechselt.

Der bei den Untersuchungen dem Oxalsäuregehalt nicht völlig entsprechend gefundene Gehalt an Phenol — unter der Annahme, daß 2 Moleküle Phenol auf 1 Molekül Oxalsäure kommen — läßt die jeweilige chemische Prüfung der Zusammensetzung des Präparats wünschenswert erscheinen. Andrerseits macht die Flüchtigkeit des Phenols an der Luft eine Aufbewahrung in wohlverschlossenen Gefäßen und an kühlem Ort nötig.

Vergleichende Untersuchung über die Erhöhung der Desinfektionswirkung von Phenolen durch Zusatz von Oxalsäure und anderen Säuren.

Die Desinfektionsversuche haben den Zweck, den Einfluß der Oxalsäure und einiger anderer Säuren auf die bakterizide Kraft des Phenols und der Kresole zu untersuchen.

Um nun den Einfluß verschiedener Säuren miteinander vergleichen zu können, ist die Anwendung isomolekularer Lösungen erforderlich: der Gehalt an Phenol bezw. Kresol in den Lösungen bleibt derselbe (in den vorliegenden Versuchen gleich einer 20litrigen, d. h. $^n/_{20}$-Lösung, was bei Phenol einer 0,47, bei Kresolen einer 0,54%igen Lösung entspricht), der Gehalt der Lösungen an Säure aber wird variiert in der Weise, daß zwischen dem Gehalt an Phenol und Säure ein einfaches molekulares Verhältnis besteht, d. h. daß auf 1 Molekül Phenol 1, 2, 4, 6 saure Wasserstoffatome fallen.

Erläuternd muß folgendes dazu bemerkt werden: Von den angewandten Säuren ist Essigsäure eine einbasische Säure, Oxal-, Schwefel- und Weinsäure sind zweibasisch, Zitronen- und Borsäure dreibasisch. Nun wirken nach Krönig und Paul[1] die Säuren — von der Fluorwasserstoff-, Salpeter- und Trichloressigsäure, deren Anionen spezifische Wirkung haben, abgesehen — im allgemeinen nach Maßgabe ihres elektrolytischen Dissoziationsgrads, d. h. nach dem Grade, in dem sie in wässeriger Lösung in ihre Ionen, das saure Wassertoffion ($H^{\cdot}$) und das mit der Säure wechselnde Anion (z. B. Cl', CH_3CO_2' usw.) gespalten sind. Die Säuren wirken also, von den oben erwähnten Ausnahmen abgesehen, im wesentlichen durch ihre sauren Wasserstoffatome auf die Bakterien.

Nun enthält Essigsäure als einbasische Säure ein solches saures Wasserstoffatom ($CH_3CO_2\mathbf{H}$), Oxalsäure, Schwefelsäure und Weinsäure je zwei ($COO\mathbf{H} \cdot COO\mathbf{H}$, $SO_4\mathbf{H}_2$ usw.), Zitronen- und Borsäure als dreibasische Säuren je drei ($BO_3\mathbf{H}_3$). Wir dürfen also nicht die Desinfektionswirkung von einem Molekül Phenol + einem Molekül Essigsäure mit der einer solchen von einem Molekül Phenol + einem Molekül Oxalsäure vergleichen, denn im letzteren Fall hätten wir doppelt so viel saure Wasserstoff-

[1]) B. Krönig und Th. Paul, „Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion." Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 25. 1 (1897).

atome in Lösung; die Säuren müssen vielmehr, wie wir dies vom Arbeiten mit Normallösungen in der Titrieranalyse schon längst gewöhnt sind, im Verhältnis der Äquivalentgewichte (Molekulargewicht dividiert durch Wertigkeit) angewandt werden.

Die auf ihre Desinfektionswirkung zu prüfenden Lösungen wurden daher in der Weise bereitet, daß 25 ccm $^{n}/_{10}$-Lösung des betreffenden Phenols mit einer entsprechenden Menge Normallösung der betreffenden Säure versetzt und die Flüssigkeit mit sterilem destilliertem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt wurde, so daß der Gehalt an dem betreffenden Phenol einer 20litrigen Lösung entsprach; die Einzelheiten — welche Mengen Säure und Wasser verwendet wurden, der Gehalt der entstandenen Lösungen an Säure, das Verhältnis zwischen Phenolmolekülen und sauren Wasserstoffatomen der Säure und zwischen Phenol und Säure — gehen aus Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1. Übersicht über die Mischungsverhältnisse von Phenol und Säure bei den Desinfektionsversuchen.

(Der Gehalt an Phenol entspricht in der nachstehenden Tabelle durchweg einer 20litrigen Lösung = 0,47 % Phenol bezw. 0,54 % Kresol.)

25 ccm der $^{n}/_{10}$ Phenollösung plus	und ccm steriles destilliertes Wasser	ergaben eine Lösung, die in bezug auf Säure litrig war	%ig war	Das Phenol stand dabei zum sauren Wasserstoffatom der Säure im Verhältnis $C_6H_5OH : H^{\cdot}$	Auf Moleküle Phenol waren Molek. Säure vorhanden
2,5 ccm N-Essigsäure[1])	22,5	20	0,3	1 : 1	1 : 1
5 „ „	20	10	0,6	1 : 2	1 : 2
10 „ „	15	5	1,2	1 : 4	1 : 4
15 „ „	10	3,3	2,0	1 : 6	1 : 6
2,5 „ N-Oxalsäure[2])	22,5	20	0,225	1 : 1	2 : 1
5 „ „	20	10	0,45	1 : 2	1 : 1
10 „ „	15	5	0,9	1 : 4	1 : 2
15 „ „	10	3,3	1,5	1 : 6	1 : 3
2,5 „ N-Borsäure[3])	22,5	20	0,10	1 : 1	3 : 1
5 „ „	20	10	0,21	1 : 2	3 : 2
10 „ „	15	5	0,41	1 : 4	3 : 4
15 „ „	10	3,3	0,68	1 : 6	3 : 6

Infolge der Verwendung isomolekularer Lösungen können wir die Ergebnisse der in den Tabellen 2—6 (Seite 510—513) aufgeführten Desinfektionsversuche unter sich vergleichen.

Als Testobjekt diente ein frisch gezüchteter Stamm von Staphylococcus pyogenes aureus. Die Kokken wurden nach den Angaben von Paul und Prall[4]) an Granaten angetrocknet und diese im Eisschrank aufbewahrt. Eine ausreichende Zahl Granaten wurde in die zu prüfende desinfizierende Lösung eingebracht; nach genau gemessenen Zeiten wurden mit einem Platinsieb je 5 Granaten entnommen, zur Unschädlich-

[1]) Essigsäure $CH_3 \cdot CO_2H$ ist eine einbasische Säure.

[2]) Oxalsäure $CO_2H \cdot CO_2H$ ist eine zweibasische Säure, ebenso Schwefel- und Weinsäure.

[3]) Borsäure BO_3H_3 ist eine dreibasische Säure, ebenso Zitronensäure.

[4]) Paul, Th. und Prall, F., „Die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln mit Staphylokokken.“ Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 26 (1907).

Tabelle 2. Die Desinfektionskraft des Phenols und der drei Kresole in 20litriger Lösung gegenüber Staphylokokken an Granaten.

Präparat	Angewandt in		Wachstum nach Einwirkung von																	
	litriger	%iger	2	3	4	5	6	7	8	10	12	15	20	30	40	50	60	75	90	120
	Lösung		Minuten am a. Tage nach dem Versuch																	
Phenol	20	0,47	1		1		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	2
o-Kresol	20	0,54	2	2	2	2		3	2	2	2	—								
p-Kresol	20	0,54	2	2	2	2	4	—	—											
m-Kresol	20	0,54	1	2	2	2	3	—	—											

Die Zahl (1, 2, 3) gibt an, am wievielten Tag nach Anstellung des Versuchs Wachstum eintrat; — besagt, daß innerhalb der Beobachtungszeit von 14 Tagen kein Wachstum erfolgte.

Tabelle 3 Einfluß des Zusatzes von Oxal-, Schwefel-, Zitronen-, Wein-, Bor- und Essigsäure auf die Desinfektionskraft von 20 litriger = 0,47 %iger Phenollösung gegenüber Staphylokokken.

Litrigkeit in Bezug auf		Gehalt der Lösung in % an		Molekulares Verhältnis Phenol: saurem Wasserstoffatom der Säure	Molekulares Verhältnis Phenol : Säure	Wachstum nach Einwirkung von													
Phenol	Säure	Phenol	Säure			2	4	6	8	10	12	15	20	30	40	50	60	90	120
						Minuten am a. Tage nach dem Versuch													
Phenol für sich.																			
20	—	0,47	—	— —	— —	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2
Phenol und Oxalsäure.																			
20	20	0,47	0,225	1 : 1	2 : 1[1]	2	2	2	2	2	2	3	—	—					
20	10	0,47	0,45	1 : 2	1 : 1	2	2	2	2	2	2	2	—	—					
20	5	0,47	0,9	1 : 4	1 : 2	2	—	—	—	—	—								
20	3,3	0,47	1,5	1 : 6	1 : 3	2	—	—	—	—	—								
Phenol und Schwefelsäure.																			
20	20	0,47	0,245	1 : 1	2 : 1	2	2	2	2	2	2	2	—	—					
20	10	0,47	0,49	1 : 2	1 : 1	2	2	2	2	2	2	—	—	—					
20	5	0,47	0,98	1 : 4	1 : 2	3	2	2	3	—	—								
20	3,3	0,47	1,62	1 : 6	1 : 3	—	—	—	—										
Phenol und Zitronensäure (3 basisch!)																			
20	5	0,47	1,28	1 : 4	3 : 4		1	1	1	1	2	2	1	1					
20	3,3	0,47	2,1	1 : 6	1 : 2		1	1	1	2	1	2	2						
Phenol und Weinsäure.																			
20	5	0,47	1,5	1 : 4	1 : 2		1	1	2	2	2	2	—	—					
20	3,3	0,47	2,5	1 : 6	1 : 3		1	1	1	—	—	—	—	—					
Phenol und Essigsäure.																			
20	5	0,47	1,2	1 : 4	1 : 4	1	2	2	2	—	—	—	—						
20	3,3	0,47	2,0	1 : 6	1 : 6	2	—	—	—	—	—	—	—						
Phenol und Borsäure (3 basisch!)																			
20	5	0,47	0,4	1 : 4	3 : 4	1	1	1	1	1	1	1	1						
20	3,3	0,47	0,7	1 : 6	1 : 2	1	1	1	1	1	1	1	1						

[1]) In diesem Verhältnis sind nach Angabe der Fabrik Phenol- und Oxalsäure im Phenostal vorhanden.

Tabelle 4. Einfluß des Zusatzes von Oxal-, Schwefel-, Zitronen-, Wein-, Essig- und Borsäure auf die Desinfektionskraft von 20 litriger = 0,54 %iger m-Kresollösung gegenüber Staphylokokken.

Litrigkeit in Bezug auf		Gehalt der Lösung in % an		Molekulares Verhältnis Phenol: saurem Wasserstoffatom der Säure	Molekulares Verhältnis Phenol : Säure	Wachstum nach Einwirkung von									
						2	3	4	5	6	7	8	10	12	15
Phenol	Säure	Phenol	Säure			Minuten am a. Tage nach dem Versuch									
m-Kresol für sich.															
20	—	0,54	—	— —	— —	1	2	2	2	3					
m-Kresol und Oxalsäure.															
20	20	0,54	0,225	1 : 1	2 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	10	0,54	0,45	1 : 2	1 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	5	0,54	0,9	1 : 4	1 : 2	—	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	1,5	1 : 6	1 : 3	—	—	—	—	—	—	—			
m-Kresol und Schwefelsäure.															
20	20	0,54	0,245	1 : 1	2 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	10	0,54	0,49	1 : 2	1 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	5	0,54	0,98	1 : 4	1 : 2	—	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	1,62	1 : 6	1 : 3	—	—	—	—	—	—	—			
m-Kresol und Zitronensäure.															
20	5	0,54	1,28	1 : 4	3 : 4	2	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	2,1	1 : 6	1 : 2	—	—	—	—	—	—	—			
m-Kresol und Weinsäure.															
20	5	0,54	1,5	1 : 4	1 : 2	—	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	2,5	1 : 6	1 : 3	—	—	—	—	—	—	—			
m-Kresol und Essigsäure.															
20	5	0,54	1,2	1 : 4	1 : 4	—	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	2,0	1 : 6	1 : 6	—	—	—	—	—	—	—			
m-Kresol und Borsäure.															
20	3,3	0,54	0,7	1 : 6	1 : 2	1	2	3	—	—	—	—			

machung der Säure und Entfernung des Phenols in 0,1 %iger Ammoniaklösung hin und her bewegt und dann in ein Schälchen mit sterilem destilliertem Wasser gebracht, von dem aus sie in Röhrchen mit je 10 ccm Bouillon überführt wurden; die Röhren blieben 14 Tage lang bei 37° und wurden anfangs täglich, später alle zwei Tage nachgesehen. Trat Trübung der Bouillon ein, so wurde die Reinheit der Kultur durch ein mikroskopisches Präparat kontrolliert.

Tabelle 2 zeigt die bekannte Tatsache, daß m- und p-Kresol dem o-Kresol in wässeriger Lösung an Desinfektionswirkung etwas überlegen sind; Phenol in isomolekularer Lösung erwies sich im Vergleich mit den Kresolen als sehr schwaches Desinfiziens.

Während so Phenol in der durchweg angewandten 20 litrigen Lösung Staphylokokken nicht in 120 Minuten tötet und bei p- und m-Kresol 7, bei o-Kresol 15 Minuten zur Abtötung erforderlich sind, bewirkt der Zusatz der Säuren eine zum Teil außerordentliche Steigerung der Desinfektionskraft der Phenole: die Oxalsäure z. B. zu Phenol

Tabelle 5. Einfluß des Zusatzes von Oxal-, Schwefel-, Essig- und Borsäure auf die Desinfektionskraft von 20 litriger = 0,54 % iger p-Kresollösung und von Oxalsäure auf die einer gleichen o-Kresollösung gegenüber Staphylokokken.

Litrigkeit in Bezug auf		Gehalt der Lösung in % an		Molekulares Verhältnis Phenol: saurem Wasserstoffatom der Säure	Molekulares Verhältnis Phenol : Säure	Wachstum nach Einwirkung von									
						2	3	4	5	6	7	8	10	12	15
Phenol	Säure	Phenol	Säure			Minuten am a. Tage nach dem Versuch									
				p-Kresol für sich.											
20	—	0,54	—	— —	— —	2	2	2	2	4	—	—			
				p-Kresol und Oxalsäure.											
20	20	0,54	0,225	1 : 1	2 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	10	0,54	0,45	1 : 2	1 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	5	0,54	0,9	1 : 4	1 : 2	—	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	1,5	1 : 6	1 : 3	—	—	—	—	—	—	—			
				p-Kresol und Schwefelsäure.											
20	20	0,54	0,245	1 : 1	2 : 1	2	—	—	—	—	—	—			
20	10	0,54	0,49	1 : 2	1 : 1	2	—	—	—	—	—	—			
20	5	0,54	0,98	1 : 4	1 : 2	—	—	—	—	—	—	—			
20	3,3	0,54	1,62	1 : 5	1 : 3	—	—	—	—	—	—	—			
				p-Kresol und Essigsäure.											
20	5	0,54	1,2	1 : 4	1 : 4	2	3	3	3	—	—	—			
20	3,3	0,54	2,0	1 : 6	1 : 6	2	2	2	—	—	—	—			
				p-Kresol und Borsäure.											
20	3,3	0,54	0,7	1 : 6	1 : 2	2	3	3	3	5	—	—			
				o-Kresol für sich.											
20	—	0,54	—	— —	— —	2	2	2	2		3	2	2	2	—
				o-Kresol und Oxalsäure.											
20	20	0,54	0,225	1 : 1	2 : 1	—	—	—	—	—	—	—			
20	10	0,54	0,45	1 : 2	1 : 1	—	—	—	—	—	—	—			

bezw. Kresol in dem Verhältnis, in dem die Komponenten im Phenostal nach Angabe der Fabrik enthalten sein sollten, zugesetzt (2 Moleküle Phenol auf 1 Molekül Oxalsäure) bewirkt Abtötung der Staphylokokken schon in 20 Minuten beim Phenol, in 2 Minuten bei den Kresolen (Tabelle 3, 4 und 5). Nicht ganz so stark war die Erhöhung der Desinfektionswirkung des Phenols und des p-Kresols durch die Schwefelsäure (Tabelle 3 und 5). Von den anderen angewandten Säuren erhöhte Essigsäure am stärksten die Phenolwirkung, nächst ihr die Weinsäure, schwächer als diese die Zitronensäure (Tabelle 3 und 4); Borsäure wirkte nicht merklich verstärkend. Beim p-Kresol war die Steigerung der Desinfektionskraft durch Schwefel- und Essigsäure nicht ganz so stark wie beim m-Kresol.

Als die Desinfektionswirkung der Säuren für sich in entsprechenden Lösungen untersucht wurde (Tabelle 6), erwies sich Schwefelsäure am stärksten bakterizid, wesentlich schwächer war die keimtötende Kraft der Oxalsäure, während sich Essig-,

Tabelle 6. Die Desinfektionswirkung der Oxal-, Schwefel-, Zitronen-, Wein-, Essig- und Borsäure in den Konzentrationen der vorhergehenden Versuche gegenüber Staphylokokken.

Angewandte Säure	Litrigkeit	%-Gehalt	Wachstum nach Einwirkung von								
	der Lösung an Säure		6	8	10	12	15	20	25	30	60
			Minuten am a. Tag nach dem Versuch								
Oxalsäure	20	0,225	2	2	2	1	2	2	2	1	—
„	10	0,45	2	1	2	2	2	2	—	—	—
„	5	0,9	1	2	1	2	—	—	—	—	—
„	3,3	1,5	5	2	—	—	—	—	—	—	—
Schwefelsäure	20	0,245	1	3	2	2	—	—	—	—	—
„	10	0,49	2	2	—	—	—	—	—	—	—
„	5	0,98	2	—	—	—	—	—	—	—	—
„	3,3	1,62	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zitronensäure	5	1,28	2	1	1	1	2	2	2	2	2
„	3,3	2,1	1	1	1	2	2	2	—	1	—
Weinsäure	5	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	—
„	3,3	2,5	1	1	1	1	1	1	2	—	—
Essigsäure	5	1,2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
„	3,3	2,0	2	2	2	2	2	2	—	—	—
Borsäure	3,3	0,7					1	1	1	1	1

Wein- und Zitronensäure in ihrer Wirkung nicht wesentlich unterschieden und Borsäure auch in 3,3 litriger Lösung Staphylokokken nicht in 60 Minuten tötete.

Von den angewandten Säuren ist die Schwefelsäure die stärkste d. h. elektrolytisch am stärksten dissoziiert, auch die Oxalsäure gehört zu den stärkeren Säuren, Zitronen- und Weinsäure zu den mittelstarken, Essigsäure zu den schwachen Säuren, während Borsäure kaum mehr saure Eigenschaften hat.

Die Ergebnisse der in Tabelle 6 aufgeführten Prüfung der Desinfektionskraft der Säuren stehen also mit der von Krönig und Paul[1]) gefundenen Regel, daß die Säuren im allgemeinen nach Maßgabe ihres elektrolytischen Dissoziationsgrades auf Bakterien wirken, in befriedigender Übereinstimmung[2]). Nur die Essigsäure fällt mit ihrer im Verhältnis zu ihrer elektrolytischen Dissoziation zu starken Wirkung etwas aus dem Rahmen heraus[3]).

---

[1]) A. a. O.

[2]) Nach Ostwald, (Über die Affinitätsgrößen organischer Säuren und ihre Beziehungen zur Zusammensetzung und Konstitution derselben. Zeitschr. f. physikal. Chemie 3, S. 170, 241, 369 (1889)), verhalten sich z. B. die Affinitätskonstanten, die einen Maßstab der Stärke bilden, von

Oxalsäure zu Weinsäure zu Essigsäure wie
10 zu 0,097 zu 0,0018.

[3]) Die Versuche von Tabelle 6, die einige Tage nach denen der Tabellen 2—5 angestellt sind, können nicht unmittelbar in den zahlenmäßigen Ergebnissen mit denen der vorangehenden Tabellen verglichen werden, da die Staphylokokken unterdessen an Widerstandskraft verloren hatten.

Vergleichen wir aber die Wirkung der Säuren für sich (Tabelle 6) mit dem Maße, in dem sie die Desinfektionskraft der Phenole erhöhen (Tabelle 3—5), so fällt auf, daß die an sich schwächer bakterizide Oxalsäure die Wirkung der Phenole in höherem Maße steigert, als die für sich stärker desinfizierende Schwefelsäure, und daß die drei organischen Säuren — die Essig-, Wein- und Zitronensäure — die für sich angewandt etwa gleiche keimtötende Kraft zeigen, die Wirkung der Phenole in ganz verschiedener Weise erhöhen.

Würde es sich um eine bloße Addition der Wirkungen der Phenole und Säuren handeln, so wäre zu erwarten, daß die Säuren sich hinsichtlich ihrer die Desinfektionskraft der Phenole steigernden Wirkung in dieselbe Reihe ordnen, in die sie ihre eigene bakterizide Wirkung stellt, daß also die Schwefelsäure am stärksten das Keimtötungsvermögen des Phenols erhöhte, nächst ihr die Oxalsäure und in etwa gleichem Maße die drei anderen organischen Säuren. Dieser Widerspruch gehört zu den bei kombinierter Wirkung zweier Stoffe öfters zu beobachtenden auffallenden Erscheinungen.

Zusammenfassung.

1. Oxalsäure läßt sich in der Wärme bei Gegenwart von Kresolen, nicht von Phenol azidimetrisch bestimmen; die Oxalsäurebestimmung durch Ausfällen der Oxalsäure als oxalsaures Calcium aus essigsaurer Lösung, Glühen und Wägen als Calciumoxyd wird durch Gegenwart von Phenolen nicht beeinträchtigt.

2. Umgekehrt hindert Oxalsäure nicht die Bestimmung der Phenole durch direkte Titration mit Kaliumbromat und nach dem Koppeschaarschen Verfahren.

3. Das Präparat Phenostal hatte in den untersuchten Proben weder eine dem Diphenyloxalester noch eine dem Diphenylester der ortho-Oxalsäure genau entsprechende Zusammensetzung; der Oxalsäuregehalt wurde etwas größer, der Phenolgehalt etwas geringer gefunden, als diesen Bezeichnungen entspricht.

4. Phenostal verliert beim Stehen an der Luft allmählich Phenol.

5. Nach seinem chemischen Verhalten ist Phenostal und ebenso die von Claparède und Smith zuerst beschriebene Verbindung nicht als Phenolester der ortho-Oxalsäure, sondern als eine Oxalsäure mit 2 Molekülen Kristallphenol anzusehen; diese Feststellung ist von Bedeutung für die praktische Beurteilung des Präparats, das somit nicht als Verbindung von immer konstanter Zusammensetzung angesehen werden kann.

6. Die Desinfektionswirkung des Phenols und der drei Kresole wird durch Zusatz von Säure zum Teil erheblich verstärkt. Hinsichtlich des Grades der Verstärkung ordneten sich die untersuchten Säuren in folgende Reihe:

Oxalsäure (stärkste Erhöhung),
Schwefelsäure,
Essigsäure,
Weinsäure,
Zitronensäure,
Borsäure (kaum eine Wirkung).

7. Bei Versuchen mit den reinen Säurelösungen (ohne Phenole) erwies sich Schwefelsäure in der Desinfektionskraft der Oxalsäure überlegen; Wein-, Zitronen- und Essigsäure waren etwa gleich wirksam. Die Reihenfolge, in die sich die Säuren nach ihrer eigenen desinfizierenden Wirkung ordnen, entspricht nicht derjenigen, in der sie nach ihrer die Desinfektionskraft der Phenole erhöhenden Wirkung stehen (Ziffer 6).

8. Bei Versuchen mit den reinen Lösungen der Phenole stand ortho-Kresol in der Desinfektionskraft etwas hinter meta- und para-Kresol zurück; Phenol erwies sich in isomolekularer Lösung von sehr schwacher Wirkung gegenüber Staphylokokken.

Dem Direktor der bakteriologischen Abteilung, Herrn Geheimen Regierungsrat Prof. Dr. Uhlenhuth, danke ich auch an dieser Stelle bestens für die freundliche Anregung zu diesen Versuchen.

Dahlem, Juli 1909.

Nachschrift.

Der neue, mir erst nach Drucklegung der Arbeit zu Gesicht gekommene Prospekt der Firma Schülke und Mayr bezeichnet das Phenostal als Diphenyl-o-oxalester. Auch diese Bezeichnung kann nach den im ersten Teil der Arbeit gemachten Ausführungen nicht mehr als zutreffend angesehen werden.

Untersuchungen über die Kälberruhr.

I. Mitteilung.

Von

Dr. med. vet. C. Titze, Regierungsrat und **Dr. med. vet. A. Weichel,** Hilfsarbeiter

im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Die wichtigste, weil häufigste und in der Regel tödlich endigende Erkrankung der Kälber ist die Kälberruhr. Sie wird in allen viehzuchttreibenden Bezirken Deutschlands wie des Auslands beobachtet und tritt in manchen Gegenden so verheerend auf, daß die Kälberaufzucht dort in Frage gestellt ist. Auf die Kälberruhr wird es zurückgeführt, daß ganze landwirtschaftliche Bezirke vorübergehend von der Viehzucht sich abgewandt und sog. Umschlagswirtschaften mit regelmäßigem Ankauf von Milchvieh eingerichtet haben. Die Kälberruhr soll auch an dem sonst schwer verständlichen Brauche die Schuld tragen, daß vielfach die neugeborenen Kälber „nüchtern" d. h. unmittelbar nach der Geburt geschlachtet und als Nahrungsmittel verwendet werden.

Der durch die Kälberruhr verursachte Verlust an Kälbern kann in Deutschland auf annähernd 10% geschätzt werden.

Die große wirtschaftliche Bedeutung der Kälberruhr im Zusammenhang mit der Tatsache, daß die symptomatische Therapie durch Verabreichung von Obstipantien in der Regel versagt, erklärt die Bemühungen, durch Klarlegung des Wesens der Krankheit Mittel und Wege zu ihrer erfolgreichen Bekämpfung zu finden. Bis jetzt ist diesen Bemühungen ein sicherer Erfolg nicht beschieden gewesen.

I. Die Ätiologie der Kälberruhr.

Der erste, der methodische Untersuchungen über die Ätiologie der Kälberruhr angestellt hat, ist der dänische Forscher C. O. Jensen (19—22).

Jensen isolierte aus dem Darme, den Mesenteriallymphdrüsen, den sonstigen inneren Organen, dem Knochenmarke und dem Herzblute von Kälbern, die an weißer Ruhr gestorben waren, ein Bakterium, das sich nach seinen Angaben, abgesehen von der Pathogenität für neugeborene Kälber, als völlig identisch mit dem stets im Darminhalte vorhandenen Bacterium coli commune erwies.

Durch Fütterung mit Reinkulturen seines Kälberruhrbakteriums konnte Jensen bei ganz jungen Kälbern regelmäßig typische weiße Ruhr erzeugen, während das gewöhnliche Darmkolibakterium höchstens leichte, vorübergehende Durchfälle hervorrief. Nach subkutaner Einverleibung des Kälberruhrbakteriums entstanden teils lokale Entzündungen, teils akute, tödliche Septikämie.

Die Kälberruhr ist nach Jensen nicht eine einfache lokale, sondern eine mit einer Septikämie komplizierte Darmentzündung, da die Kälberruhrbakterien die Fähigkeit haben, vom Darm aus in die Blutbahn einzudringen. Die wesentlichsten Ergebnisse der Untersuchungen von Jensen wurden bestätigt von dem holländischen Tierarzt Poels (1899).

Jensen und Poels stellen im Gegensatz zu französischen Autoren (Lesage, Delmer u. a.), die als atrium infectionis der Kälberruhrbazillen hauptsächlich den Nabel bezeichnen, die Infektion per os in den Vordergrund und sehen Nabel, Subkutis und Mastdarm als weniger häufige Eintrittsstellen des infektiösen Agens an. Die französischen Autoren weichen von Jensen und Poels auch insofern ab, als sie ein Bakterium aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie als Erreger beschuldigen.

In einem Punkt weicht Poels in seiner Auffassung vom Wesen der Kälberruhr von Jensen ab. Während Jensen annimmt, daß die gewöhnlichen Kolibazillen unter bestimmten, gesundheitlich ungünstigen Vorbedingungen virulente Eigenschaften annehmen und zu Kälberruhrbakterien werden können, glaubt Poels, daß bei der Kälberruhr eine ganz bestimmte Varietät der Kolibazillen in Betracht komme, deren einziges Unterscheidungsmerkmal allerdings nur in einer erhöhten Pathogenität für Kälber bestehe. Beide Forscher nehmen übereinstimmend für die Mehrzahl der Kälberruhrenzootien eine einheitliche Ursache an: das pathogene Bacterium coli commune.

In zweiter Linie erwähnt Jensen als Erreger der Kälberruhr die koliähnlichen Parakolibazillen, deren systematische Stellung er indessen nicht darlegt.

Poels führt ferner als Erreger der Kälberruhr die Pseudokolibazillen an. Als Pseudokolibazillose bezeichnet Poels die seltneren Fälle von Kälberruhr, die durch einen Bazillus hervorgerufen werden, der sich vom Kolibazillus im wesentlichen dadurch unterscheidet, daß er Milch nicht zur Gerinnung bringt. Daneben spricht Poels noch von einer Streptomykose, Kolistreptomykose, Pyocyaneusbazillose, Proteusintoxikation, Septicaemia haemorrhagica und Polyarthritis specifica als ätiologischen Besonderheiten der unter dem klinischen Begriff der Kälberruhr zusammengefaßten Erkrankungen des Säuglingsalters des Rindes. Schütz hat den bakteriologischen Befund von Jensen bestätigt. Der Sitz der Infektion ist nach ihm der Darm, der Infektionsstoff wird durch die Fäces der kranken Kälber verbreitet und bietet bei der Unterbringung der Kälber im Stalle reichlich Gelegenheit zur Ansteckung gesunder Kälber.

Ebenso stimmen die Ergebnisse der Untersuchungen von Joest mit denjenigen von Jensen und Poels überein. Joest teilt die Auffassung Jensens, daß sich die Kälberruhrkolibakterien von den gewöhnlichen Kolibakterien nur in der Wirkung der Bakterien auf das Kalb unterscheiden, man könne sie nicht als eine besondere

Art der Kolibakterien hinstellen. Es gelang auch Joest durch Verfütterung von Kälberruhrbazillen Kälberruhr zu erzeugen. Da er aber auch durch Nabelinfektion und durch intravenöse Infektion die Krankheit bei Saugkälbern künstlich herbeiführen konnte, so schließt er, daß die Erkrankung des Darmes bei der Kälberuhr nicht primär zu sein braucht, sondern auch sekundär entstehen kann.

Auch Piana, Monti und Veratti sehen das Bacterium coli commune oder ein mit diesem übereinstimmendes Bakterium als Ursache der Kälberruhr an, während Mazzanti und Vigezzi nach ihren Befunden nur Kokken als Erreger der Kälberruhr betrachten.

Nocard hat bei seinen Untersuchungen über die in Irland auftretenden Kälberkrankheiten „white scour“ und „lung disease“ in den Organen der kranken Tiere neben Koli- und Pseudokolibazillen ovoide Bakterien gefunden, die intravenös injiziert bei Kälbern weiße Ruhr erzeugten.

Stazzi züchtete aus Blut, Organen und Gelenken ruhrkranker Kälber in Italien einen für Meerschweinchen und Mäuse virulenten Kolibazillus. Stazzi gibt auch an, daß die filtrierten Bouillonkulturen für Meerschweinchen giftig waren.

Cadéac meint, daß in ätiologischer Beziehung bei der Kälberruhr dieselben Bakterien in Betracht kämen, wie bei der selteneren Ruhr der erwachsenen Rinder.

Fröhner wirft die Frage auf, ob nicht vielleicht auch in einigen Fällen von Kälberruhr den Erregern der menschlichen Dysenterie eine ursächliche Bedeutung zukomme.

Bugge stimmt auf Grund seiner in Schleswig-Holstein ausgeführten Untersuchungen in ätiologischer Hinsicht Jensen bei und nimmt sowohl eine intrauterine als auch eine extrauterine Infektion an. Letztere kann nach Bugge entweder vom Magendarmkanal oder vom Nabel aus erfolgen.

Pfeiffer-Rostock hält im Gegensatz zu Bugge die intrauterine Infektion für ausgeschlossen. Als einzige Eintrittspforte der pathogenen Keime komme der frisch abgerissene Nabelstrang in Betracht. Die beweglichen Bazillen fänden in dem wasserreichen Nabelstrang einen vorzüglichen Nährboden und ein geeignetes Medium zum Eindringen in den Körper des neugeborenen Kalbes. Deshalb sucht Pfeiffer durch einen zweckmäßigen Nabelverband diese Infektionspforte zu verschließen.

O. Müller-Königsberg hat den Pfeifferschen Nabelverband mit Nutzen verwendet.

Thomassen ist der Ansicht, daß die infektiöse Darmentzündung der Kälber, die neben der Polyarthritis und der Nabelvenenentzündung dieser Tiere so häufig als Ursache von Fleischvergiftungen angegeben wird, fast immer durch den Bacillus enteritidis Gärtner hervorgerufen werde.

In Bestätigung dieser Ansicht hat Riemer in der Sitzung des Rostocker Ärztevereins vom 11. 2. 08, gestützt auf objektive Befunde, auf die Bedeutung des B. enteritidis Gärtner für die Entstehung septischer Kälbererkrankungen hingewiesen. Bei elf an Durchfällen erkrankten Kälbern konnte Riemer viermal einen Mikroorganismus isolieren, der sich in keiner Weise von dem Bacillus enteritidis Gärtner unterscheiden ließ.

Fally endlich ist auf Grund von Agglutinationsversuchen dazu gekommen, den von Jensen als Erreger bestimmter Fälle von Kälberruhr gefundenen Parakolibazillus mit dem B. enteritidis Gärtner zu identifizieren.

Aus den in der Literatur niedergelegten Angaben über die Kälberruhr geht demnach hervor, daß bisher für ihre Ätiologie im wesentlichen zwei verschiedenen Bakteriengruppen angehörige Bakterienarten in Anspruch genommen worden sind: ein pathogenes Bacterium coli commune und ein zur Gruppe der Erreger der hämorrhagischen Septikämie gehöriges ovoides Bakterium. Daneben werden als mehr gelegentliche ätiologische Faktoren bei der Kälberruhr Parakolibazillen, Pseudokolibazillen, Gärtnerbazillen und weiterhin der B. lactis aërogenes, B. pyocyaneus, B. proteus, Diplokokken u. a. angesehen. Inwieweit es sich bei den letztgenannten Bakterienfunden um nebensächliche Sekundärinfektionen handelte, ist nicht entschieden, da Infektionsversuche mit diesen verschiedenen Erregern an gesunden Kälbern zum Teil gar nicht, zum Teil nicht in ausreichender Zahl angestellt worden sind.

Nach Jensen sollen die ätiologisch verschiedenen Kälberruhrformen in der Mehrzahl der Fälle besondere klinische und pathologisch-anatomische Merkmale darbieten. Jensen hat die verschiedenen Krankheitsbilder folgendermaßen zusammengestellt.

1. Die Kolibazillose. Sie zeigt sich in zwei Krankheitsformen. Die eine tritt sehr bald nach der Geburt auf und verläuft sehr akut. Bei der Sektion gestorbener Kälber findet man enteritische Veränderungen, geschwollene Mesenteriallymphdrüsen, Milztumor, Hyperämie der Leber und der Nieren sowie zahlreiche Kolibazillen im Blut und in den Organen. Die zweite Krankheitsform verläuft weniger rasch, stellt sich 3—5 Tage nach der Geburt ein und führt in 2—4 Tagen zum Tode. Der Darm ist durch Gase ausgedehnt, oft blaß; deutlich in Erscheinung tretende enteritische Veränderungen fehlen. Die Gekrösdrüsen sind geschwollen, aber blaß. Kein Milztumor, Bakterien weder im Blute noch in den Organen. In den Gekrösdrüsen entweder keine oder nur sehr wenige Kolibakterien.

2. Die Parakolibazillose und Pseudokolibazillose. Die durch Para- und Pseudokolibazillen bedingten Krankheitsformen verlaufen unter den Erscheinungen einer hämorrhagischen Enteritis. Es fallen hauptsächlich auf die Schwellung der Mesenteriallymphdrüsen und der Milz, sowie die degenerativen Veränderungen der großen drüsigen Organe. Im Blute findet man die Erreger in großer Zahl.

3. Die Aërogenesbazillose bietet dieselben Erscheinungen wie die Kolibazillose.

4. Bei der Pyocyaneusbazillose zeigt sich starke Diarrhöe mit zunehmender Entkräftung. Pathologischer Befund: Rotfleckige Darmschleimhaut, Degeneration der Leber, kein Milztumor. Im Darminhalt, aber nicht im Blute, findet sich der B. pyocyaneus fast in Reinkultur.

5. Die Proteusinfektion Sie tritt bei Kälbern auf, die einige Tage oder eine Woche alt sind. Die Krankheit verläuft langsamer. Die Fäces haben einen höchst üblen, fötid stinkenden Geruch, sind aber nie mit Blut gemischt. Der Darm ist

durch Gase ausgedehnt, seine Serosa und Schleimhaut sind blaß. Die Milz ist nicht geschwollen. Die Gekrösdrüsen sind geschwollen, aber nur wenig hyperämisch. Proteusbakterien werden lediglich im Darminhalt angetroffen.

Im Anschluß hieran sei noch erwähnt, daß Löffler in einer Diskussionsbemerkung auf der 2. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin im Jahre 1908 angeführt hat, er habe früher Kälberruhr vielfach untersucht und in einem Falle eine Art von Pneumokokken, in einem andern koliähnliche Bakterien im Blute gefunden. Es handelte sich wohl hierbei, wie Löffler hervorhebt, um sekundäre Infektionen, die infolge der Läsionen des Darms durch Erreger der Kälberruhr zustande gekommen sind.

Krautstrunk hat nach einer Mitteilung auf der Kölner Naturforscherversammlung bei 23 von ihm in der Rheinprovinz untersuchten Ruhrkälbern sechsmal Diplokokken in Reinkultur gefunden, mit denen sich außerordentlich leicht neugeborene Kälber per os, vom Nabel aus und durch intravenöse Injektion tödlich infizieren ließen. Eine eingehende Veröffentlichung über diese Befunde liegt bisher nicht vor.

Auch Zooparasiten werden als Erreger ruhrähnlicher Durchfälle beschuldigt. So wird im Department of Agriculture and technical Instruction for Ireland Vol. VIII Nr. 4 Juli 1908 berichtet, daß in Irland viele Jungrinder an Durchfällen eingehen, die auf eine starke Invasion des vierten Magens mit Nematoden zurückzuführen seien.

Eigene Untersuchungen über die Ätiologie der Kälberruhr.

Aus den Untersuchungen von Jensen, Poels, Joest und Versuchen, die wir im Kaiserlichen Gesundheitsamte angestellt haben, geht hervor, daß die Verfütterung geringer Kulturmengen verschiedener Varietäten der Koli-Typhusgruppe oder Typhaceen (Löffler), die aus Kälberruhr-Kadavern isoliert wurden, bei jungen Kälbern starke Durchfälle erzeugt, die häufig zum Tode führen. Bei den Tieren, die der Infektion erliegen, findet man dieselben Veränderungen wie bei der natürlichen enzootisch auftretenden Kälberruhr. Es gelingt fast stets, Bakterien der genannten Gruppe aus dem Darminhalte der Kadaver von spontan an Ruhr erkrankten Kälbern, meistens auch aus den inneren Organen und dem Blute zu isolieren, die für Saugkälber pathogen sind. Diese Tatsachen sprechen für einen Zusammenhang der in Rede stehenden Bakterien mit der Pathogenese der Kälberruhr. Mit Rücksicht hierauf erschien es angezeigt, die fraglichen Bakterien genauer festzustellen und die Häufigkeit des Vorkommens der verschiedenen Arten bei Ruhrenzootien verschiedener Gegenden zu ermitteln. Denn bis dahin fehlte eine systematische Untersuchung zahlreicher aus Enzootien verschiedener Gegenden[1]) isolierter Kälberruhrstämme.

1. Untersuchungen von Bakterien aus Kälberruhrenzootien verschiedener Gegenden.

Unsere Untersuchungen wurden im Februar 1908 begonnen. Über ihr Ergebnis haben wir bereits auf der 2. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie (12. Juni 1908) kurz berichtet.

---

[1]) Die Untersuchungen von Schmitt und Zeller sind erst nach unserer ersten Veröffentlichung erschienen.

Es war uns die Gelegenheit gegeben, 210 Kälberruhrstämme verschiedener Herkunft zu untersuchen, die wir der Liebenswürdigkeit der Herren C. O. Jensen-Kopenhagen, Poels-Rotterdam, F. Schmitt-Stettin, O. Müller-Königsberg, H. Raebiger-Halle, Bugge-Kiel, Helfers-Prenzlau, v. Sande-Frankfurt u. Schreiber-Landsberg verdanken.

Die von Jensen überlassenen Stämme waren als Parakoli-, die anderen schlechtweg als Kälberruhrbakterien bezeichnet. Wir hatten ausdrücklich um Überlassung nicht näher differenzierter Kälberruhrstämme gebeten. Sämtliche Stämme wurden hinsichtlich ihrer Wachstumseigentümlichkeiten auf den gewöhnlichen Nährmedien, auf Malachitgrünplatten, auf Lackmus-Nutroseagar nach v. Drigalski, auf Endoagar und Neutralrotagar, in Milch, auf das Vermögen, die verschiedenen Zuckerarten zu vergären, auf das Verhalten in Lackmusmolke, auf Indolbildung und nach ihrem agglutinatorischen Verhalten miteinander verglichen. Als Vergleichsobjekte wurden folgende Bakterienarten herangezogen: 1. Bacillus typhosus, 2. Bacillus paratyphosus A hominis, 3. Bac. paratyphosus B hominis, 4. Bac. suipestifer, 5. Bac. enteritidis Gärtner, 6. Ratinbazillus, 7. Bact. coli commune vom Menschen und verschiedenen Tierarten; 8. Bac. dysenteriae Shiga-Kruse, 9. Bac. dysenteriae Flexner.

Nach den von uns vorgenommenen Identitätsprüfungen erwiesen sich von den geprüften 210 Kälberruhrstämmen verschiedener Herkunft als Bacterium coli commune 160 Stämme (= 76,2 %); als Bacillus enteritidis Gärtner 24 (= 11,45 %); als Pseudokolibazillen 16 (= 7,62 %); als Parakolibazillen[1]) 4 (= 1,9 %); als Bac. paratyphosus B, als Bac. lactis aërogenes und als Bac. proteus mirabilis je 2 (= 0,9 %).

Wir halten es natürlich nicht für angängig, aus diesen Verhältniszahlen Schlußfolgerungen auf die numerische Bedeutung der einzelnen Bakterienarten für die Ätiologie der Kälberruhr zu ziehen.

Namentlich glauben wir, daß den Parakolibazillen in unserem Sinne (vgl. S. 525) eine erheblich größere Bedeutung für die Kälberruhr zukommt, als sie vorstehende Prozentzahl ausdrückt.

Genauere Verhältniszahlen über die Rolle der verschiedenen Varietäten der Typhaceen werden wir später beibringen.

So viel läßt sich jedoch sagen, daß neben den Ruhrkolibazillen den Gärtnerbazillen, Pseudokolibazillen und Parakolibazillen in unserem Sinne die Hauptrolle zu-

---

[1]) Der bakteriologische Begriff der „Parakolibazillen“ (der Name stammt von Jensen) ist in der Literatur unseres Wissens noch nicht festgelegt. Wir verstehen darunter eine ganz bestimmte Varietät der Typhaceen und bezeichnen als Parakolibazillen alle die Stämme, die in sämtlichen Merkmalen untereinander übereinstimmen (s. S. 525), sich aber von dem Bacillus paratyphosus B und dem Bacillus enteritidis Gärtner durch die Agglutination leicht unterscheiden lassen. Auf den Namen „Parakolibazillen“ legen wir keinen besonderen Wert, falls weitere Untersuchungen eine andere Benennung als wünschenswert erscheinen lassen sollten, wir werden ihn aber in dieser Arbeit in dem angegebenen Sinne festhalten. Vielleicht sind die von uns als Parakolibazillen bezeichneten Bakterien identisch mit den von Schmitt in seiner kürzlich erschienenen Veröffentlichung als Bacillus paratyphosus B bezeichneten, aus Kälberruhrkadavern isolierten Bakterien, die sich durch ihr agglutinatorisches Verhalten ebenfalls vom Bac. paratyphosus B hominis unterschieden.

kommt, hinter denen eine Bazillenart, die sich, abgesehen von ihrer Pathogenität für Kälber, mit den heutigen bakteriologischen Methoden vom Bac. paratyphosus B hominis nicht unterscheiden läßt, wohl erheblich zurücktritt.

Daß der aus menschlichen Paratyphusepidemien isolierte Bazillus Kälberruhr hervorzurufen vermag, ist nicht bewiesen. Die von Schmitt ziemlich oft aus ruhrkranken Kälbern isolierten Bakterienstämme, die sich vom Bac. paratyphosus B hominis morphologisch, kulturell und durch ihr Gärungsvermögen nicht, wohl aber durch die Agglutination unterscheiden ließen, scheinen, wie erwähnt, mit unseren Parakolibazillen identisch zu sein.

Eine seuchenhaft auftretende Pyocyaneusbazillose bei Kälbern ist bisher nicht einwandfrei nachgewiesen worden. Der Bac. pyocyaneus gehört zu den nicht gerade seltenen saprophytischen Darmbewohnern und kann deshalb in der Agone in das Blut und somit in die Organe übertreten.

Ebenso ist die Bedeutung des Bac. lactis aërogenes und des Bac. proteus für die Ätiologie der Kälberruhr nach den vorliegenden Untersuchungen zweifelhaft.

Die aus ruhrkranken Kälbern stammenden Bakterienarten sind nach den Differenzierungskriterien, die wir in unsern sehr zahlreichen Prüfungen zur Anwendung gebracht haben, wie folgt zu charakterisieren:

I. B. coli commune aus Ruhrkälbern:

Meist etwas plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, 2—4 mal so lang wie breit, daneben jedoch auch einige Stämme mit längeren Stäbchen, die oft zu kurzen Fäden auswachsen. Auf weniger günstigen Nährböden findet man nahezu isodiametrische Formen, während dieselben bei steigendem Kochsalzgehalt der Nährmedien an Länge und Dicke bedeutend zunehmen. Quellung in älteren Gelatine- und Peptonkulturen. Involutionsformen in älteren Serumkulturen. Die Bakterien färben sich gut mit allen Anilinfarben; nach Gram entfärben sie sich. In Ausstrichen aus Exsudaten und Organen findet man oft Polfärbung. Die Eigenbewegung wechselt, ist meist nur gering und kann als scharfes Kriterium nicht benutzt werden. Frisch aus dem Körper gezüchtete Stämme zeigen gewöhnlich lebhaftere Bewegung als ältere. Die meisten Stämme büßen ihre Eigenbewegung auf künstlichen Nährböden bald mehr bald weniger ein; vereinzelte Stämme sind jedoch nach 4—6 Wochen ohne Überimpfung auf nicht zu stark eingetrocknetem Agar noch lebhaft beweglich.

Auf der Oberfläche der Gelatine wachsen üppige, unregelmäßige, runde oder gezackte, teils knorpel- oder milchglasartige, trockene, irisierende, teils dickere saftige, mehr weißliche und weniger durchscheinende Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung sehen sie rissig, moireeartig aus und sind von Leisten und Furchen durchzogen. Die Tiefenkolonien sind klein, scharf umschrieben, bräunlich-gelb und wetzsteinartig. Im Stich ist das Wachstum nagelähnlich mit flachem, rundem oder gezacktem, oft weinblattartigem Kopfe und dickem, weißgelblichem Faden.

Auf der Agarplatte wachsen üppige, homogene, weiße bis gelbliche, in der Mitte undurchsichtige, am Rande durchscheinende, rundliche oder gelappte, teils mehr feinkörnige, teils fadenziehende, schleimige Kolonien. Die Tiefenkolonien sind ähnlich denen in der Gelatine. Auf dem Strich wächst ein breiter Rasen von welligem Kontur und weißgrauer Farbe.

Das Kondenswasser ist etwas trübe, einzelne Stämme bilden auf letzterem ein Oberflächenhäutchen. Auf erstarrtem Rinderserum wachsen weißliche, durchscheinende Kolonien, die später einen reichlichen gelblichen, homogenen Belag bilden.

Bouillon wird innerhalb 24 Stunden gleichmäßig graugelb bis ockergelb getrübt, später bildet sich meist ein ziemlich starker, krümeliger Bodensatz, der sich beim Schütteln leicht zerteilt.

Einige Stämme zeichnen sich durch Häutchen- und Flockenbildung aus. Die Kulturen verbreiten meist einen fäkalen Geruch. Auf der Kartoffel bildet sich ein üppiger, erbsen-

pureeartiger, dunkelgelber bis graubrauner, mitunter ein mehr gelblich-weißer Belag. Die Kartoffel selbst nimmt eine graubraune bis grünliche Farbe an.

In peptonhaltigen Nährböden (Pepton Witte) wird innerhalb 48 Stunden reichlich Indol gebildet. Zum Indolnachweis benutzten wir vornehmlich das Ehrlichsche Reagens.

Lackmusmolke (Kahlbaum) wird durch die Einsaat von B. coli commune innerhalb 24 Stunden karmin- bis weinrot und meist getrübt. In älteren Kulturen bildet sich meist ein starker Bodensatz mit teilweiser Klärung der überstehenden Flüssigkeit. Die Rotfärbung ist dauernd.

Milch wird durch Kolibazillen bei 37° nach 1—4 Tagen zur Gerinnung gebracht; zuerst bildet sich ein zartes Gitterwerk, später entstehen käsige, weißgelbliche Gerinnsel unter Auspressung von farblosem bis gelblichem Milchserum. Traubenzucker, Milchzucker, Mannose, Lävulose, Maltose und Mannit werden unter starker Säure-, Alkohol- und Kohlensäurebildung zersetzt; dagegen nicht Rohrzucker, Raffinose, Dextrin, Kartoffelstärke, Glyzerin und Adonit. (Siehe Poppe, Lit. Nr. 40.)

Auf 0,5‰ Malachitgrünagar (Verfahren von Löffler, modifiziert nach Lentz u. Tietz), der sich für differentialdiagnostische Zwecke gut bewährt hat, wird innerhalb der ersten 24 Stunden das Wachstum stark gehemmt. Nach 48 Stunden beginnen spärliche, den Nährboden kaum entfärbende Kolonien zu wachsen. Auf Lackmuslaktoseagar nach Drigalski-Conradi wachsen mehr oder weniger trübe karminrote, saftig glänzende Kolonien, die den Nährboden rot färben.

Der Rothberger-Schefflersche Neutralrotagar, modifiziert nach Oldekop, wird unter kräftiger Gasbildung etwas langsamer als bei B. paratyphosus A u. B entfärbt. Die Farbe wird fluoreszierend gelblichgrün bis bernsteingelb. Auf dem Endoschen Fuchsinagar, modifiziert nach Klinger, wachsen intensiv rote Kolonien, die sich nach einigen Tagen meist entfärben.

Auf Blutagar nach Schottmüller mit 40% Hammelblut, sowohl bei Schüttel- wie bei Stichkultur, wachsen graurötliche bis graubraune, saftig glänzende Kolonien. Der Nährboden selbst bleibt kirschrot. In keinem Falle konnten wir eine charakteristische Hämolyse oder Farbstoffzersetzung nachweisen.

Zum Vergleiche prüften wir die Eigenschaften von 10 gewöhnlichen Kolistämmen, von denen der eine aus normalen menschlichen Fäces, die anderen neun aus normalem Kote von verschiedenen Tierarten (Kälbern, erwachsenen Rindern, Pferd, Schwein, Schaf, Ziege, Kaninchen) gezüchtet waren. Sie verhielten sich bei den Prüfungen nach allen erwähnten Methoden im wesentlichen ebenso wie die Kälberruhrkolibakterien. Geringfügige Abweichungen in den morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften sind bei einzelnen Kolistämmen verschiedener Herkunft fast immer zu beobachten und lassen darauf schließen, daß diese Bakterienart zahlreiche Rassen umfaßt, wobei zu bemerken ist, daß sich in unseren Versuchen die Eigenschaften der einzelnen geprüften Kolistämme im wesentlichen konstant erwiesen.

Erhebliche Abweichungen ergaben sich bei den vergleichenden Agglutinationsversuchen, die wir mit Hilfe von 6 verschiedenen monovalenten Koliseren ausführten. Hier konnten wir die Angaben von van de Velde bestätigen, daß die agglutinierende Wirkung von Seren, die durch Immunisierung mit einem Kolistamme gewonnen wurden, auf andere Kolistämme erheblich variiert. Wir konnten die Ruhrkolistämme durch die Agglutination nicht in einheitliche Gruppen bringen und typische Rassen, z. B. nach der Herkunft von der Tierart, wie Rinderkoli-, Pferdekoli usw., nicht aufstellen.

Nach einer Angabe von Kohlbrugge sollen die Kolibazillen, die aus dem Darm eines Menschen gezüchtet wurden, von dem Normalserum desselben Individuums agglutiniert werden. Für Rinder und Kaninchen, bei denen wir diesbezügliche Nachprüfungen anstellten, hat sich eine Bestätigung des von Kohlbrugge angegebenen

Verhaltens nicht ergeben. Die Kolibazillen aus den Fäces eines Tieres wurden von dem Normalserum desselben Tieres nicht in spezifischer Weise agglutiniert.

Das Ergebnis der vergleichenden Untersuchungen über gewöhnliche und Kälberruhrkolibakterien läßt sich dahin zusammenfassen, daß wir morphologisch, kulturell und biologisch konstante Unterschiede zwischen den gewöhnlichen und den Ruhrkolibakterien nicht aufzufinden vermochten.

Fütterungsinfektionsversuche an weißen Mäusen mit Kälberruhrkolibazillen (40 verschiedenen Stämmen) und gewöhnlichen Kolibazillen verschiedener Haustiere (Rind, Pferd, Schaf und Ziege) verliefen sämtlich negativ. Es wurden für diese Versuche insgesamt 90 Mäuse verwendet. Ebenso wurden vergleichende subkutane Impfversuche an 40 weißen Mäusen ausgeführt ($^1/_2$ Öse 24stündige Agarkultur). Von diesen starben 4 interkurrent; die übrigen blieben gesund.

Die Frage nach der Identität der Ruhrkoli- und der gewöhnlichen Darmkolibakterien muß demnach unbeantwortet bleiben. Sicher ist, daß die hier in Frage kommenden Bakterien mit unseren heutigen Untersuchungsmethoden nicht unterschieden werden können, und daß als einziges unterscheidendes Merkmal ihre verschiedene krankmachende Wirkung auf Saugkälber anzusehen ist.

II. Als Pseudokolibazillen bezeichnen wir die Bakterienstämme, die sich von den gewöhnlichen Kolibazillen nur dadurch unterscheiden, daß sie Milch nicht zur Gerinnung bringen, obwohl sie Milchzucker ziemlich stark vergären. In Lackmusmolke tritt dauernde Rötung ein, die Farbe ist aber meist hellrot und durchscheinend. Die von uns untersuchten Pseudokolistämme spalteten ferner aus Pepton kein Indol ab.

III. Dem Kolibazillus sehr nahe steht der B. lactis aërogenes, der als ein Erreger der gewöhnlichen Milchsäuregärung angesehen wird und sich normal häufig im Darme von Milchkälbern findet. Er scheint eine größere Gruppe zu bilden, in der sich eine gewisse Variabilität einzelner Eigenschaften zeigt.

Im allgemeinen sind es wenig bewegliche Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, oft kokkenähnlich, vereinzelt oder zu zweien angeordnet, manchmal in auffallend längeren Exemplaren auftretend. Auf gewöhnlichen Nährböden ist dieser Bazillus vom Kolibazillus nicht zu unterscheiden. Auf Kartoffeln zeigt er eine saftige, meist weißlich-gelbe, ausgebreitete und dicke Wucherung, in der man öfters Gasblasen bemerkt, die nach dem Platzen kraterförmige Vertiefungen im Nährboden hinterlassen und käseartigen Geruch verbreiten. Milch wird schnell koaguliert. Milch- und Traubenzucker werden sehr stark vergoren. Indol wird nicht gebildet. Die Bazillen werden im Tierkörper nach intraperitonealer Injektion oft mit einer Schleimhülle Kapsel) umgeben. Das Wachstum wird auf Malachitgrünplatten [in der Regel] gehemmt. Auf Drigalskiplatten wachsen gewöhnliche bis linsengroße, trockene Kolonien.

IV. Die Paratyphus-B-Bazillen, Parakolibazillen in unserem Sinne und die Gärtnerbazillen lassen sich nach den bis jetzt bekannten Differenzierungsmethoden nur auf Grund des serologischen Verfahrens voneinander unterscheiden.

Das agglutinierende Gärtnerserum besitzt keine Agglutinationswerte für den Paratyphus-B Bazillus und umgekehrt. Unter der Bezeichnung „Parakolibazillen“ wurden bisher Bakterien der Paratyphus-B- und Gärtnergruppe zusammengefaßt, deren Eigenschaften nicht erschöpfend festgestellt waren. Wir haben zuerst nachgewiesen, daß

diese Gruppe mindestens drei voneinander unterscheidbare Bakterienarten umfaßt, nämlich neben den beiden bekannten Arten der Paratyphus-B- und Gärtnerbazillen noch eine dritte tierpathogene Bakterienart, für die wir die bereits geläufige, aber bisher nicht klar definierte Bezeichnung „Parakolibazillen" zu verwenden vorschlagen.

Als Parakolibazillen bezeichnen wir diejenigen Bakterienstämme, die weder vom Gärtner- noch vom Paratyphus-B-Serum agglutiniert werden, sonst aber in allen Merkmalen mit Gärtner- und Paratyphus-B-Bazillen übereinstimmen und folgende Eigenschaften gemeinsam haben:

Kurze koliähnliche Stäbchen mit abgerundeten oft spitz zulaufenden Enden und lebhafter Eigenbewegung. Die Eigenbewegung wechselt in Stärke und Art; bald ist sie schießend, bald mehr bohrend, schlängelnd oder sich überschlagend. Die Stäbchen färben sich gut mit den gebräuchlichen Färbemitteln und entfärben sich nach Gram. Die Kolonien auf Gelatine sind opaleszierend grauweiß bis porzellanweiß. Im Stich ist das Wachstum nagelähnlich: flache nach den Rändern zu schmal auslaufende, teils runde, teils zackige weinblattartige Auflagerungen und fadenförmiges Wachstum entlang dem Stiche. Auf Agar wachsen grauweiße bis graugelbliche Kolonien mit glatten oder gebuchteten Rändern. Nach 2—3 Wochen ist das Zentrum trübe und gelblich. Bouillon wird diffus getrübt; es bildet sich ein ziemlich starker, beim Schütteln in Wolken aufwirbelnder Bodensatz. Einige Stämme bilden ein zartes Häutchen. Bei alten Kulturen sinken die Bakterien zu Boden, die überstehende Bouillon wird fast ganz klar. Indol wird nicht gebildet. Lackmusmolke ist nach 18—20 Stunden leicht gerötet und durchscheinend; nach 18—36 Stunden — bei den Parakolibazillen gewöhnlich später als bei Gärtner- und Paratyphus-B-Bazillen — beginnt ein Farbenumschlag der roten Lackmusmolke in Violett bis Ultramarinblau, der nach 3—5 Tagen beendet ist.

Milch gerinnt nicht, sie wird vielmehr nach 2—3 Wochen aufgehellt, gelblich oder wasserglasfarben. Auf der Kartoffel wachsen spärliche, grauweiße bis gelbliche Kolonien dem Impfstriche entlang. Traubenzucker wird stark vergoren; Milchzucker wird dagegen nicht vergoren. Die auf Malachitgrünagar üppig wachsenden, grün- bis graugelblichen Kolonien entfärben den Nährboden innerhalb 24—48 Stunden vollständig.

Auf Lackmuslaktoseagar wachsen blaurötliche, nach 24 Stunden tiefblau erscheinende, feuchtglänzende, rundliche, linsenförmige, glattrandige Kolonien. Der Nährboden bleibt blau. Der Endosche Fuchsinnährboden wird in der Umgebung der gelblichen, im Zentrum später blauroten Kolonien, die oft von einem schmalen, doppelt konturierten Saum umgeben sind, blaßrosafarben. Neutralrotagar wird innerhalb 24—48 Stunden grünlich bis bernsteingelb fluoreszierend gefärbt. B. enteritidis Gärtner entfärbt im allgemeinen etwas schneller als die Paratyphus-B- und Parakolibazillen.

Für die Differenzierung der Typhaceen leistet der Malachitgrünagar vorzügliche Dienste, da auf ihm das Wachstum der Kolibazillen in der Regel stark gehemmt wird. Es gibt aber, wenn auch ziemlich selten, Kolistämme und diesen nahe stehende Bakterien, die auf der Malachitgrünplatte von Bakterien des Paratyphus- und Gärtnertypus nicht mit Sicherheit zu unterscheiden sind. Hier bietet der Lackmuslaktoseagar eine wertvolle Ergänzung. Von uns unmittelbar aus Handelsmilch verschiedenen Ursprungs gezüchtete, unbewegliche Milchsäurebakterien wuchsen innerhalb 24 Stunden auf der Löfflerschen Grünplatte als stecknadelkopf- bis linsengroße, feuchtglänzende, grünlich gelbe, runde Kolonien mit glatten und gebuchteten Rändern; der Nährboden wurde ziemlich stark entfärbt. Später färbten sich die Kolonien graugrünlich bis schmutzig honiggelb. Es war für die Art des Wachstums auf der Grünplatte gleichgültig, ob die Ausstriche direkt aus der Milch gemacht wurden, oder ob die betreffenden Bakterien erst durch Agarplatten isoliert und dann auf die Grünplatte gestrichen wurden.

Auf Lackmuslaktoseagar wuchsen die Bakterien als graubläuliche Kolonien mit dunkelblauem Zentrum. Nach 5—8 Tagen wurde zuerst das Zentrum hellblau, während nach 8—10 Tagen die ganze Kolonie saftig glänzend hellultramarinblau aussah. Die einzelnen Kolonien zeigten sich beim Abheben mit der Platinöse etwas schleimig.

Hier sei beiläufig bemerkt, daß Paratyphus-B-, Parakoli- oder Gärtnerbazillen in 20 untersuchten verschiedenen Proben von Berliner Handelsmilch (im Sommer) niemals gefunden wurden.

Wir bemühten uns, außer den bekannten weitere Unterscheidungsmittel der Typhaceenvarietäten zu ermitteln. Zu diesem Zwecke untersuchten wir das Wachstum von verschiedenen Stämmen der Koli-Typhusgruppe in Bouillon, in der längere Zeit Typhaceen gewachsen waren. So wurden bis zu 7 Monate alte Paratyphus-B-, Parakoli- und Gärtnerbouillonkulturen durch Filtration (Berkefeldfilter) keimfrei gemacht und, nachdem sie zwecks Sterilitätsprüfung 70—75 Stunden im Brutschranke bei 37° C. gehalten worden waren, wechselseitig mit den verschiedensten Typhaceenstämmen beimpft. Ein spezifisches Verhalten dieser Nährböden gegenüber bestimmten Stämmen konnte indessen nicht festgestellt werden. In den älteren Nährböden zeigte sich Wachstumshemmung für alle Stämme in gleicher Weise, so daß die Hemmung lediglich auf eine Erschöpfung der Nährbouillon an Nährstoffen zurückgeführt werden muß, die für die einzelnen Bakterienarten nichts Spezifisches hat.

Sehr eingehende vergleichende Untersuchungen über die Biologie der Bakterien der Paratyphus-B- und Gärtnergruppe sind neuerdings von Poppe veröffentlicht worden, auf die wir hiermit hinweisen wollen, besonders da sich in genannter Arbeit ausgedehnte Versuche über die Vergärung verschiedener Kohlehydrate und Alkohole durch die hier in Frage stehenden Bakterien finden.

V. Der Bacillus pyocyaneus, dessen Eigenschaften feststehen, ist in der Natur als Saprophyt ungemein weit verbreitet und gehört, wie erwähnt, nicht selten zu den saprophytischen Darmbewohnern, die in der Agone in das Blut und damit in die Organe übertreten können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß der Bazillus in Einzelfällen Saugkälber krank machen kann, es ist dies aber bisher nicht einwandfrei nachgewiesen. Als Erreger einer seuchenhaft auftretenden Kälberruhr können wir ihn auf Grund bisheriger Untersuchungsergebnisse nicht ansprechen.

H. Kossel traf den Bacillus pyocyaneus im Eiter bei einer Otitis media und im eitrigen Exsudat an der Basis des Kleinhirns eines gestorbenen Kindes als alleinigen Erreger.

Koske führt den Bacillus pyocyaneus als Erreger einer Rhinitis und Meningitis haemorrhagica des Schweines (sog. Schnüffelkrankheit) an. Nirgends finden sich erwiesene Angaben, die ihn als ursächliches Moment einer infektiösen Enteritis zeigen.

Eine übersichtliche Zusammenstellung der wesentlichen Merkmale der wichtigsten Glieder der Koli-Typhusgruppe bietet folgende Tabelle:

Art	Beweglichkeit	Vergärung von Traubenzucker	Vergärung von Milchzucker	Milchgerinnung	Lackmusmolke	Indolbildung	Gasbildung und Fluoreszenz im Neutralrot-Traubenzuckeragar	Drigalski-Conradi	Malachitgrünagar
Bact. coli	ja	ja	ja	ja	dauernd rote Trübung	ja	ja	undurchsichtige Kolonien, rot	Wachstum meistens unterdrückt
„ pseudocoli	„	„	„	nein	rot, durchscheinend	„	„	„	„
„ paracoli	„	„	nein	„	rot, dann Farbenumschlag	nein	„	durchscheinend blau	üppiges Wachstum
„ enteritid. Gärtner u. Ratin	„	„	„	„	„	„	„	„	„
„ paratyphosus B „ psittacosis „ typhi murium „ suipestif.	„	„	„	„	„	„	„	„	„
„ paratyphosus A	„	„	„	„	dauernd rot, keine Trübung	„	„	kleine glasige Kolonien, blau	sehr kleine, zarte Kolonien, grün
„ typhi	„	nein	„	„	„	„	nein	„	„
„ dysenteriae Shiga-Kruse	nein	„	„	„	schwache Rötung, keine Trübung	„	„	„	klein od. sehr zartes Wachstum, grün
„ d. Flexner	„	„	„	„	„	„	„	„	„

2. Untersuchungen verschiedener Kälberruhrenzootien.

Fall I. Bei einem spontanen Kälberruhrausbruche im Januar 1908 unter 8—14 Tage alten Versuchskälbern des Kaiserl. Gesundheitsamtes, bei dem von 20 eingestellten Kälbern 5 starben, konnten wir mittels Malachitgrünplatten lediglich aus dem Darminhalte Bazillen züchten, die zu der Paratyphus-B-Gruppe gehörten. Sie fanden sich in großer Menge. In den inneren Organen und dem Blute, namentlich auch im Nabelstrange ließen sich derartige Bazillen nicht auffinden; auch zeigte das Blutserum der betroffenen Kälber keine agglutinierenden Eigenschaften für den isolierten Bazillus. Spätere Untersuchungen des Blutes auf agglutinierende Fähigkeiten wurden nicht ausgeführt, da dieser Fall nur beiläufig verfolgt wurde. Durch Fütterung eines älteren Kalbes mit zwei Agarkulturen dieses Bakterienstammes wurde bei dem Versuchstiere Durchfall hervorgerufen, der aber nur zu vorübergehender Gesundheitsstörung führte.

Bei den an der spontanen Erkrankung verendeten Kälbern fanden sich die Erscheinungen der Kälberruhr, sonstige Veränderungen, namentlich an den Lungen, dagegen nicht.

Fall II. Mitte Mai 1908 erkrankte ein 6 Wochen altes, bis dahin vollständig gesundes, kräftiges Kalb des Gesundheitsamtes spontan an Durchfall und geringgradiger Lungenentzündung. Das Tier war in den ersten drei Tagen sehr matt und nahm nur wenig Milch zu sich. Das Haarkleid war rauh und glanzlos. Der Hinterleib war leer und aufgezogen. Es bestand dünnflüssiger, braungelber, übelriechender Durchfall. Die Mastdarmtemperatur stieg am dritten Tage auf 41° C.

Im Kote des Tieres fanden sich zahlreiche Bakterien, die in allen Eigenschaften mit den Paratyphus-B-Bazillen übereinstimmten. Das Kalb ist nach achttägiger Krankheitsdauer bei lediglich diätetischer Behandlung (Verabreichung abgekochter Vollmilch mit zwei rohen Eiern täglich) wieder genesen.

In dem der Jugularis entnommenen Blute konnten auf Schrägagar keine Bakterien nachgewiesen werden, obwohl zahlreiche Röhrchen mit reichlicher Blutmenge bestrichen wurden. Im Kote fanden sich die zur Paratyphus-B-Gruppe gehörenden Bazillen noch 14 Tage nach der völligen Wiederherstellung des Tieres.

Nach achttägiger Krankheitsdauer des Kalbes agglutinierte sein Blutserum den aus dem Kote gezüchteten und einen zum Vergleich herangezogenen Stamm des Bac. suipestifer in einer Verdünnung von 1 : 200, nach 14 Tagen in einer Verdünnung von 1 : 300 und nach 4 Wochen in einer Verdünnung von 1 : 800. Von da an sank der Agglutinationstiter wieder ab. Sechs Wochen nach der völligen Wiederherstellung agglutinierte das Blutserum den betreffenden Stamm nur noch in einer Verdünnung von 1 : 100.

In den beiden angeführten Fällen war den Kälbern Gelegenheit gegeben, sich mit „Schweinepestbazillen" zu infizieren, da im Kaiserl. Gesundheitsamte gleichzeitig sehr umfangreiche Versuche über Schweinepest ausgeführt wurden, und sich bei schweinepestkranken Schweinen in überwiegender Mehrzahl der Fälle reichlich „Schweinepestbazillen" finden, die sich von den Paratyphus-B-Bazillen bekanntlich nicht unterscheiden lassen.

Die Schweinepest kann also vielleicht eine Ursache für die Entstehung der Kälberruhr abgeben.

Von Wichtigkeit für die Verbreitung der Kälberruhr ist ferner der Umstand, daß von dem einen Kalbe noch 14 Tage nach völliger Genesung für Kälber pathogene „Schweinepestbazillen" mit dem Kote ausgeschieden wurden.

Fall III. Aus dem stark geröteten Dünndarm und den geschwollenen Mesenterialdrüsen eines an Ruhr auf einem Rittergute in Mecklenburg gestorbenen vier Tage alten Kalbes isolierten wir Bakterien, die mit dem Bac. enteritidis Gärtner völlig übereinstimmten (Agglutination usw.). Die Darmschleimhaut des Kalbes war geschwollen, gerötet, von zahlreichen Blutungen durchsetzt. Blut aus dem Kadaver zur Ausführung der Agglutination konnten wir nicht erhalten. Es wurde uns jedoch Mischblut von anscheinend gesunden, zwei bis vier Monate alten Kälbern, die früher in demselben

Stalle gestanden und an Durchfällen gelitten hatten, zur Verfügung gestellt. Das Serum agglutinierte den aus den übersandten Organen gezüchteten sowie einen anderen Gärtnerbazillenstamm in der Verdünnung bis 1 : 8000. Parakolibazillen und „Schweinepestbazillen" sowie Ruhrkolibazillen wurden nicht agglutiniert.

Fall IV. Bei einem weiteren, von einem anderen Gute stammenden, gleichfalls unter den Erscheinungen der Kälberruhr verendeten, 5 Tage alten Kalbe wurden der uneröffnete Darm, die Milz und die Leber eingeschickt. Der Darminhalt war wässerig, mit käsigem Gerinnsel und Schleimflocken vermengt, die Schleimhaut des Darmes war fleckig gerötet. Die Milz zeigte keine auffälligen Veränderungen. Die Leber war brüchig und graubraun verfärbt. Während auf den mit Milzbrei beschickten Platten nur Fäulnisbakterien wuchsen, sah man auf den mit Leber und Darminhalt angelegten Agarplatten neben Fäulnis-, Milchsäure- und Kolibakterien zahlreiche Kolonien des Bac. pyocyaneus. Kolonien der Parakoli-, Paratyphus- und Gärtnergruppe wurden auf den Malachitgrün- und Drigalskiplatten nicht gefunden.

Fall V. Von fünf drei bis acht Tage alten Kälbern eines Gutes der Provinz Sachsen wurden Lungen, Darmabschnitte und Nieren eingesandt. Die Kälber waren nach dem Begleitbericht des Tierarztes an gleichzeitiger Erkrankung von Kälberpneumonie und Ruhr verendet.

Die Spitzen- und Mittellappen der Lungen waren braunrot und hepatisiert. Der Darm, dessen Gefäße stark mit Blut gefüllt waren, enthielt festweiche bis dünnflüssige, flockige, graugelbliche bis grauweiße, übelriechende Massen. Die Schleimhaut war gleichmäßig gerötet und leicht geschwollen. Die Solitärfollikel und die Peyerschen Plaques, ferner die Mesenterialdrüsen waren stark geschwollen. Die Nieren waren sehr blutreich; in der Nierenrinde saßen vereinzelte, stecknadelkopfgroße Blutungen. In den Lungen fanden sich im Ausstrich sehr zahlreich ovale, bipolar färbbare, für Mäuse pathogene Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. Auf Grünplatten, mit Darminhalt, Lungen und Nieren bestrichen, innerhalb 24 Stunden kein Wachstum. Auf den aus dem Darminhalte angelegten Kulturen (Agarplatten, Grünplatten, Drigalskiplatten) wuchsen Kolibazillen, Milchsäure- und einige andere harmlose Bakterien. Die Nieren enthielten neben Fäulnisbazillen vereinzelte Kolibakterien.

Fall VI. Von einer bäuerlichen Besitzung in Mecklenburg erhielt das Kaiserl. Gesundheitsamt die Organe und den Darmtraktus zweier Ruhrkälber. Es konnten neben Fäulnisbazillen nur Kolibakterien isoliert werden. Die Kolibazillen fanden sich auch im Herzblute und in den inneren Organen.

Fall VII. Von einem Gute in Ostpreußen wurde ein Kalbskadaver mit folgendem Begleitbericht geschickt:

„Es gehen von allen geborenen Kälbern reichlich 35 % ein oder werden nach überstandener Krankheit zu Kümmerern. Während des Weideganges kommen Erkrankungen seltener vor und wurden anscheinend auch leichter überstanden. Die Kälber wurden meistens 4—8 Tage nach der Geburt, öfters auch erst im Alter von 3—4 Wochen recht matt, der Appetit verminderte sich wesentlich, hohes Fieber, stark beschleunigte und erschwerte Atmung, Husten, große Schwäche, Steifheit der Glieder, Stöhnen beim Ausatmen, schließlich trat stinkender Durchfall ein und bald darauf

auch der Tod. Dauer der Krankheit bis vier Wochen. Diagnose: „Kälberpneumonie und Durchfall." Obduktionsbefund: Kadaver eines ca. 2 Monate alten, gut entwickelten Kalbes. Schwanz und Aftergegend mit ziemlich fest angetrockneten Kotmassen bedeckt. Fäulniserscheinungen fehlten am Kadaver. Mittlere und untere Halslymphdrüsen, Bug-, Achsel, Kniefalten- und Kniekehllymphdrüsen ohne Veränderungen. Kein abnormer Bauchhöhleninhalt. Bauchfell überall glatt und spiegelnd. Leber, Nieren, Milz ohne grobsinnlich wahrnehmbare Veränderungen, nur sehr blutreich. Kein Milztumor. Die Gefäße des Dünndarms waren stärker injiziert. In der Schleimhaut des Dünndarms einige Petechien; sonst keine Veränderungen am Digestionstraktus, keine Veränderungen an den Mesenteriallymphdrüsen. Im Labmagen fanden sich koagulierte Milch mit geringer Menge zerkleinerten Heues vermengt.

Auf der Pleura costalis an den Rippenrändern einige rötliche, schwer abziehbare Anhängsel. Die rechte Lunge war bis auf den hinteren Teil des Hauptlappens, der lufthaltig und unverändert war, groß und im Stadium der roten Hepatisation. Die linke Lunge war in gleicher Weise vollständig hepatisiert. Bakteriologischer Befund: die vor Verunreinigung geschützten (tiefen) Teile des Muskelfleisches enthielten keine Keime. In dem veränderten Lungengewebe fanden sich nicht zahlreich ovoide mäusepathogene Bakterien. Auf Grün- und Drigalskiplatten kein verdächtiges Wachstum. Im Herzblut keine Bakterien mikroskopisch nachweisbar. Abstriche von der Schleimhaut des Dick- und Dünndarms und aus der Milz auf Grün- und Drigalskiplatten ließen verdächtige Typhaceenkolonien entstehen, die sich biologisch und durch Agglutination als Bac. enteritidis Gärtner charakterisierten. Kulturversuche mit Leber- und Nierenmaterial negativ. Gärtnerbazillen wurden in den Mesenteriallymphdrüsen nicht gefunden.

Fall VIII. Auf einem kleinen Gute in Mecklenburg trat im Spätherbste 1908 unter den neugeborenen Kälbern die Ruhr auf. Bei einem uns übersandten frischen Kadaver fanden wir akuten Milztumor, Hyperämie der Leber, starke hämorrhagische Dünndarmentzündung und akute Schwellung der Mesenteriallymphdrüsen, die gleichzeitig mit Blutungen durchsetzt waren. Sinnlich auffällige Veränderungen am Knochenmark waren nicht vorhanden. Aus sämtlichen Organen und dem Blute wurde der Bac. enteritidis Gärtner gezüchtet.

Fall IX. Im Zeitraume von 4 Wochen wurden dem Kaiserl. Gesundheitsamte aus Prenzlau die Organe (Leber, Milz, Herz, Mesenterialdrüsen und Tibia) von 12 an Durchfällen verendeten Kälbern eingesandt, die aus verschiedenen Beständen stammten. In keinem Falle waren ein Milztumor oder Veränderungen am Knochenmark vorhanden. Bei 2 Tieren konnten wir aus dem Herzblut und den inneren Organen Gärtnerbazillen züchten. Bei den übrigen 10 Kälbern fanden sich nur Kolibazillen.

Fall X. Aus Neubrandenburg erhielt das Kaiserl. Gesundheitsamt die Eingeweide von einem höchstens 8 Tage alten Kalbe, das an Durchfällen eingegangen war; es bestanden keine Lungenveränderungen, kein Milztumor, dagegen eine starke Enteritis. Aus dem Herzblute, den Lungen und der Milz wurden lediglich Kolibazillen gezüchtet.

Fall XI. Mitte Januar 1909 erkrankten von 4 drei Monate alten Rindern des Kaiserl. Gesundheitsamtes in Dahlem zwei an Lungenentzündung und Durchfall. Ein Rind, bei dem während des Lebens schon im Kote sowohl Gärtner- als auch Parakolibazillen nachgewiesen werden konnten, starb. Ausgedehnte Pneumonie. Der bakteriologische Befund der Lungen und des Herzblutes war negativ. In den hepatisierten Stellen konnten weder mikroskopisch noch kulturell Bakterien nachgewiesen werden. Zwei weiße Mäuse und 2 mittelgroße Kaninchen wurden mit Lungenstückchen subkutan geimpft. Diese Tiere blieben dauernd gesund. Das zweite kranke Kalb wurde in schlechtem Nährzustande nach fast dreiwöchiger Krankheitsdauer geschlachtet. Die vorderen und mittleren Lappen beider Lungen waren hepatisiert. Mikroskopischer und kultureller Bakteriennachweis in den veränderten Lungenteilen und im Herzblute gelang nicht. Ein vier Wochen altes, gesundes Kalb erhielt 50 ccm defibriniertes Blut von dem geschlachteten Kalbe subkutan eingespritzt. Es erkrankte nicht.

Fall XII. Aus Schwerin wurden dem Kaiserl. Gesundheitsamte die Organe eines vier Wochen alten Kalbes geschickt, das anfangs an Durchfall gelitten hatte und dann an Pneumonie verendete. Ausgedehnte Pneumonie, kein Milztumor, keine Enteritis. Aus den Lungen, der Milz, dem Dick- und Dünndarm wurden Gärtnerbazillen isoliert. Im Herzblut konnten Bakterien nicht nachgewiesen werden. Erreger der hämorrhagischen Septikämie ließen sich in den veränderten Lungen weder mikroskopisch noch kulturell nachweisen.

Fall XIII. Aus dem Großherzogtum Oldenburg erhielt das Kaiserl. Gesundheitsamt vier Kälber zur Untersuchung, die an septischer Pneumonie und Ruhr verendet waren. Es handelte sich um zwei verschiedene Seuchenausbrüche. Aus jedem wurden zwei Kadaver eingesandt. Im ersteren Falle isolierten wir aus dem Herzblute, den inneren Organen und den Fäces beider Kälber Gärtnerbazillen. Bei dem dritten und vierten Kalbe aus der zweiten Enzootie konnten in derselben Verbreitung neben den Gärtnerbazillen noch Paratyphus-B-Bazillen nachgewiesen werden.

Wir haben bis Mitte Februar 1909, wenn wir von den Einsendungen der Impfanstalt in Prenzlau zunächst absehen, 12 verschiedene Ruhrenzootien untersucht. In 7 Fällen handelte es sich nur um Ruhr, hier fanden wir zweimal den Bacillus enteritidis Gärtner und zweimal, allerdings unter besonderen Verhältnissen, einen Bacillus paratyphosus B, einmal den Bacillus pyocyaneus in reichlicher Menge im Darme und zweimal in den Organen nur Kolibazillen. In 6 Fällen kamen Ruhr und Pneumonie gleichzeitig vor, hier fanden wir dreimal den Bacillus enteritidis Gärtner, einmal den Bacillus enteritidis Gärtner gleichzeitig mit Parakolibazillen und einmal denselben Bazillus gleichzeitig mit dem Bacillus paratyphosus B, in einem Falle nur Kolibazillen.

Es braucht wohl kaum besonders erwähnt zu werden, daß aus allen untersuchten Organen zahlreiche Abklatsch- und Ausstrichpräparate angefertigt, und auf verschiedenen Nährböden wie Serum, Serum-Agar, Blut-Agar Züchtungsversuche angestellt wurden, um nach anderen verdächtigen Mikroben zu fahnden. Diese Versuche hatten aber ein negatives Ergebnis.

3. Infektionsversuche an Kälbern.

Die Infektionsversuche, die an den für die natürliche Krankheit empfänglichen Tieren, den Kälbern, mit den aus Ruhrkadavern gezüchteten Bakterien ausgeführt wurden, sind das experimentum crucis für die ätiologische Bedeutung dieser Bakterien. Es wurden folgende Versuche ausgeführt.

Kalb I: Zwei Tage alt, gut genährt und kräftig. Mastdarmtemperatur schwankt zwischen 38,5 und 39,0°. Kot normal: gelblicher, festweicher Milchkot. Nabel 3 cm langes ziemlich eingetrocknetes Ende. An den Gelenken keine Veränderungen. Appetit gut.

Kalb II: Zwei Tage alt, mäßig genährt, aber völlig munter, säuft gut. Temperatur 39,2°. Kot normal, Gelenke ohne Veränderungen. Nabel fast hühnereigroß, festweich und etwas schmerzhaft. In der Nabelvene befinden sich schwarzbraune, leicht adhärente Thromben.

Kalb III: Acht Tage alt, gut genährt. Temperatur 39,3°. Kot normal. Gelenke und Nabel ohne Veränderungen.

Kalb IV: Acht Tage alt, gut genährt. Temperatur 38,9°. Das Tier erscheint völlig gesund.

Die vier Kälber gehörten der schwarzweißen Niederungsrasse an. Auf den aus den Nabelstrangstümpfen angelegten Kulturen wuchsen besonders bei Kalb II zahlreiche, bei den übrigen Kälbern vereinzelte Kolonien von Bacterium coli commune. Im Kote befanden sich Bacterium coli commune, Bac. acidi lactici, Milch peptonisierende Bakterien und Heubazillen.

Kalb I und IV, sowie Kalb II und III wurden zusammen je in eine getrennte, vorher gründlich desinfizierte Boxe gebracht.

Die Tiere wurden vorwiegend mit abgekochter Handelsmilch (Vollmilch), der etwas Leinsamenschleim zugesetzt war, ernährt. Daneben erhielten sie in geringer Menge einwandfreie, frische, rohe Milch, die von Kühen stammte, die im Kaiserl. Gesundheitsamte gehalten wurden. Die Milch wurde unter Beobachtung aseptischer Maßregeln dem Euter entnommen.

Kalb I erhielt eine 24^h bei 37° gut gewachsene Parakoliagarstrichkultur, aus einer der vorstehend beschriebenen Kälberruhrenzootien stammend, in 100 ccm frisch gemolkener Milch. Kalb IV ward nicht behandelt und kam zu Kalb I als Kontrolle.

Kalb III erhielt in gleicher Weise eine 24^h alte Gärtneragarstrichkultur, die aus einer Kälberruhrenzootie gezüchtet war, mit Milch. Kalb II blieb bei Kalb III als Kontrolltier.

1. Tag nach der Fütterung:

Kalb I: Temperatur 39,1° C. Tier ist munter und trinkt gut; nachmittags beginnt gelblicher, dünnbreiiger, stinkender Durchfall aufzutreten. Im Kote sind durch das Grünplattenverfahren die verfütterten Parakolibazillen nachzuweisen.

Kalb IV: Temperatur 39,3° C, vollkommen munter; kein Durchfall.

Kalb III: Temperatur 39,5° C, munter, trinkt gut. Es tritt blutig schleimiger, dünnbreiiger Durchfall auf. Die verfütterten Bakterien sind im Kote nachzuweisen. Es sei gleich bemerkt, daß sie sich gegen Ende der Krankheit, ebenso wie bei Kalb I, fast in Reinkultur fanden. Das Blut ist während des Lebens bis 12 Stunden vor dem Tode steril. Da die Tiere während der Nacht verendeten, konnte das Blut in den letzten Stunden vor dem Tode nicht mehr untersucht werden. Agglutinierende Fähigkeiten hat das Blutserum der erkrankten Tiere nicht erlangt.

2. Tag nach der Infektion: Kalb I: Allgemeinbefinden schlecht, Temperatur 40,3° C. Das Tier liegt vollständig ermattet und apathisch in der Boxe auf der Seite, Kopf und Beine vom Leib abgestreckt. Nasenspiegel trocken. Haarkleid rauh und struppig. Starke Abmagerung, schleimig-blutiger, übelriechender Durchfall. Das Tier nimmt nur mühsam etwas Milch zu sich.

Kalb IV: Temperatur 39,1° C. Vollkommen munter.

Kalb III: Temperatur 40,1° C. Tier ist matt, säuft aber noch gut. Dünnbreiiger, graugelber, flockiger Durchfall, nicht so übelriechend wie bei Kalb I.

Kalb II: Temperatur 39,2° C. Völlig gesund.

3. Tag nach der Infektion: Kalb I: Temperatur 41,1° C. Befund im übrigen wie tags zuvor.

Kalb IV: Temperatur 41,0° C. Das Tier ist erkrankt und zeigt geringen, grauweißen, flockigen, stinkenden Durchfall. Parakolibakterien in den Fäces nachweisbar.

Kalb III: Temperatur 40,3° C. Allgemeinbefinden und Milchaufnahme schlecht.

Kalb II: Temperatur 40,1° C. Allgemeinbefinden noch ziemlich gut. Geringer graugelber, übelriechender Durchfall. Gärtnerbazillen in den Fäces nachweisbar.

4. Tag nach der Infektion:

Kalb I tot.

Obduktionsbefund: Kadaver stark abgemagert. Totenstarre vorhanden. Die Umgebung des Afters, der Schwanz und die Hinterschenkel sind mit schmierigen, graugelben, übelriechenden Kotmassen beschmutzt. Nach dem Eröffnen der Bauchhöhle zeigt sich die Lage der Darmteile normal. Das Bauchfell ist glatt und glänzend. Die Gefäße des ganzen Darmkanals sind stark mit Blut gefüllt. Im Labmagen, dessen Schleimhaut auf der Höhe der Falten leicht gerötet und geschwollen ist, befindet sich ca. $^1/_2$ l käsig geronnene Milch. Die Schleimhaut des Dünndarmes ist punkt- und streifenförmig gerötet. Die Wand des Blind- und Dickdarmes ist verdickt, mürbe und brüchig. Dünnflüssiger, flockiger, graugelber, übelriechender Inhalt. Die Schleimhaut des Blinddarmes ist stark gerötet und geschwollen, die des Dickdarms mit einem graugelben, fibrinösen, bröckeligen, 1—3 mm dicken Belag überzogen. Die Mastdarmschleimhaut ist besonders auf der Höhe der Längsfalten und nach dem After zu punkt- und streifenförmig gerötet und stark geschwollen. Die Solitärfollikel, Peyerschen Plaques und die Mesenteriallymphdrüsen sind stark geschwollen.

Die Milz ist nicht vergrößert; Milzkapsel schlaff und leicht gerunzelt. Pulpa weich. Der seröse Überzug der Leber ist glatt und glänzend; das Parenchym rotbraun bis braungelb gefärbt. Unter der Nierenkapsel machen sich in der Rindenschicht zahlreiche punkt-, auf dem Durchschnitt streifenförmige Blutungen bemerkbar. Die Rindenschicht ist braunrot, an vereinzelten Stellen graugelb gefärbt. Außer beschränkter Atelektase an den beiden Spitzenlappen sind an den Lungen keine Veränderungen vorhanden. Im Herzbeutel befinden sich ca. 5 ccm einer klaren serösen Flüssigkeit. Unter dem Epikard und am Klappenendokard sieht man vereinzelte punktförmige Rötungen; erstere durchsetzen die graurote Herzmuskulatur meist in ihrer ganzen Dicke. Das Herzblut ist gut geronnen. Das Knochenmark ist braunrot bis rosarot gefärbt. In sämtlichen Organen, im Herzblut, Muskelfleisch und Knochenmark sind die verfütterten Bakterien nachzuweisen. Drei mit Stückchen von Herz- und Hinterschenkelmuskulatur gefütterte weiße Mäuse sterben innerhalb 10 Tagen. Im Herzblute der verendeten Mäuse finden sich Parakolibazillen.

Kalb IV: Allgemeinbefinden schlecht; Temperatur 41,3° C. Das Tier ist sehr matt und liegt regungslos am Boden. Appetit schlecht, starker Durchfall.

Kalb III: Befinden schlecht. Temperatur 40,9° C; starker Durchfall.

Kalb II: Befinden noch ziemlich gut. Temperatur 40,7° C. Das Tier nimmt die gereichte Menge Milch ganz zu sich und hat nur geringgradigen Durchfall.

V. Tag nach der Fütterung: Kalb IV Temperatur 40,3° C. Befund wie tags zuvor.

Kalb III Temperatur 40,3° C. Befinden unverändert.

Kalb II Temperatur 40,7° C. Das Tier hat stärkeren graugelben, flockigen, teils schleimigblutigen Durchfall.

VI. Tag nach der Fütterung: Kalb IV Temperatur 39,9° C; Kalb III = 39,5° C; Kalb II = 39,7° C. Der Befund ist im wesentlichen unverändert. Die Tiere erscheinen jedoch weniger krank; sie saufen wieder besser

VII. Tag nach der Fütterung: Kalb IV = 40,2° C; Kalb III = 40,0° C; Kalb II = 39,7° C. Das Befinden von Kalb IV und III hat sich wieder verschlechtert; die Tiere nehmen nur ganz wenig Milch zu sich.

VIII. Tag nach der Fütterung: Kalb IV = 38,9° C; Kalb III = 38,7° C; Kalb II = 38,8° C. Das Befinden ist sehr schlecht; alle drei Kälber liegen müde am Boden. Es besteht sehr starker Durchfall.

IX. Tag nach der Fütterung: Alle drei Kälber sind tot.

Obduktionsbefund: Das Haarkleid der stark abgemagerten Tiere ist glanzlos und struppig. After, Schwanz und Hinterbeine sind stark mit Kotmassen beschmutzt. Die Gelenke und der Nabel sind, abgesehen von der geringgradigen Nabelveränderung bei Kalb II, die fast ganz zurückgegangen ist, ohne jegliche auffällige Veränderung.

Der Obduktionsbefund von Kalb IV ist im wesentlichen derselbe wie bei Kalb I. Die Schleimhaut im Zwölffinger- und Dünndarm ist stärker gerötet. Die Leber ist bräunlich-gelb verfärbt.

Auch die Sektionsergebnisse von Kalb III und II stimmen im wesentlichen überein. Die Entzündung der Zwölffingerdarm- und Dünndarmschleimhaut ist sehr stark, die im Dick- und Mastdarm dagegen nur gering. Die Lymphfollikel, Peyerschen Plaques- und Mesenteriallymphdrüsen sind stark geschwollen und haben eine graurote bis grauweiße Farbe. Die intermuskulären Lymphknoten sind ebenfalls geschwollen. Die Leber ist bräunlich-gelb gefärbt. Milz, Nieren und Lungen zeigen keine Veränderungen. Der Herzmuskel ist graurot verfärbt. Unter dem Epikard befinden sich vereinzelte bis stecknadelkopfgroße Blutungen. Das Herzblut ist gut geronnen. Das Knochenmark ist bräunlich-rot bis hellrot gefärbt; Konsistenz weich. Nach Durchsägen der Röhrenknochen läuft das der Schnittfläche zunächst gelegene Mark langsam aus.

Die verfütterten, sowie die aufgenommenen Erreger ließen sich im Herzblut, im Knochenmark, in den inneren Organen und im Muskelfleisch, besonders reichlich bei Kalb II nachweisen.

Von sechs mit rohem Fleisch, das von den drei Kalbskadavern stammte, gefütterten weißen Mäusen starben innerhalb acht Tagen fünf. Eine war kurze Zeit krank, erholte sich aber wieder; diese Maus hatte Fleisch von Kalb IV gefressen. Im Herzblut der verendeten Mäuse wurden die entsprechenden Typhaceen gefunden.

Aus den bei den Kälbern Nr. I und Nr. III mit Parakoli- und Gärtnerbazillen angestellten Fütterungsinfektionen geht hervor, daß diese in Milch verabreicht bei Saugkälbern eine akute, unter dem Bilde der Ruhr verlaufende, tödlich endigende Krankheit hervorzurufen vermochten, und daß von den kranken Kälbern mit dem Kot so reichlich Bazillen ausgeschieden werden, daß andere in demselben Stalle befindliche Kälber wie beim natürlichen Verlauf der Ruhr infiziert wurden.

Kalb Nr. V, männlich, 3 Wochen alt, Gewicht 50 kg. Völlig munter. Kot normal, wurde verschiedentlich mit Grünplatten auf Typhaceen untersucht; Befund stets negativ. Das Blutserum des Kalbes agglutinierte einen frisch aus einem Ruhrkadaver gezüchteten Gärtnerstamm (Fall 8 S. 530) in einer Verdünnung von 1 : 10 nicht. Das Tier erhielt täglich 4 l abgekochte Vollmilch, 1 l Leinsamenschleim und gutes Wiesenheu nach Belieben. Zunächst wurde das Kalb 10 Tage lang auf seinen Gesundheitszustand beobachtet, sodann erhielt das nunmehr $4^1/_2$ Wochen alte, gesunde Tier mit der Nahrung 50 ccm 24stündige Bouillonkultur des aus Fall 8 auf S. 530 stammenden Gärtnerstammes. Die Mastdarmtemperatur (morgens und abends aufgenommen) hatte bis zum Tage der Infektion zwischen 38 ° C und 39 ° C geschwankt.

Am 1. u. 2. Tage nach der Infektion zeigt das Kalb keine Krankheitserscheinungen und verzehrt die gereichte Milch vollständig.

Am 3. Tage nach der Infektion nimmt das Tier noch 2 l Milch zu sich, zeigt geringe Störung des Allgemeinbefindens. Es setzt ziemlich weichen, gelben, wenig übelriechenden Kot ab, in dem die verfütterten Bazillen reichlich nachzuweisen sind. Die Morgentemperatur beträgt 39,4 ° C, die Abendtemperatur 39,6 ° C.

4. Tag nach der Infektion: Das Allgemeinbefinden hat sich weiter verschlechtert. Der dünnbreiige Kot ist mit blutigen Streifen durchzogen. Es werden $2^1/_4$ l Milch aufgenommen. Morgentemperatur 39,4 ° C, Abendtemperatur 38,9 ° C.

5. Tag nach der Infektion: Befund im wesentlichen wie tags zuvor. Aufgenommene Milchmenge 4 l. In einer der Jugularis entnommenen Blutprobe können weder durch Ausstrich auf Schrägagar, noch durch Drigalski- und Grünplatten Bakterien nachgewiesen werden. Morgentemperatur 38,8 ° C, Abendtemperatur 39 ° C.

6. Tag nach der Infektion: Der graugelbe Kot ist dünnflüssiger und übelriechender geworden und mit blutigen Streifen durchzogen; zahlreiche Gärtnerbakterien nachweisbar. Allgemeinbefinden wie tags zuvor. Morgentemperatur 38,6 ° C, Abendtemperatur 40,2 ° C.

7. Tag nach der Infektion: Morgentemperatur 40,2 ° C, Abendtemperatur 40,4 ° C. Die Entleerung von dünnflüssigem, übelriechendem Kot mit zahlreichen Gärtnerbazillen, fast in Reinkultur, nimmt zu. Das Allgemeinbefinden ist wesentlich verschlechtert, Milch wird völlig verschmäht; dafür wird Wasser in größerer Menge aufgenommen. Bakterien in dem der Jugularis entnommenen Blute nicht nachweisbar.

8. Tag nach der Infektion: Allgemeinbefinden sehr schlecht. Milch wird nicht aufgenommen. Morgentemperatur 40,1 ° C, Abendtemperatur 40,4 ° C.

Nicht allzu häufige Entleerungen verhältnismäßig geringer Mengen dünnflüssigen, graugelben übelriechenden, mit Blutstreifen durchzogenen Kotes. Das der Jugularis steril entnommene Blut bleibt im Dunkeln 48 Stunden bei Zimmertemperatur (15—20 ° C) stehen und wird dann auf die gebräuchlichen Nährböden gestrichen. Kein Wachstum.

Am 9. Tag nach der Infektion wird das Kalb morgens tot im Stalle gefunden.

Obduktionsbefund: Kadaver nicht aufgetrieben, Totenstarre vorhanden. Maul geschlossen. Die Schweifhaare sind durch Kotmassen fest an die Schwanzrute geklebt; die Umgebung des Afters ist beschmutzt. Nährzustand mittelmäßig gut. Nach Eröffnung der Bauchhöhle zeigt sich die Lage der Baucheingeweide normal. Bauchfell überall spiegelnd und glatt. Milz nicht vergrößert, die breiten Flächen etwas abgeplattet; die Ränder scharf. Die Milzkapsel leicht gerunzelt. Pulpa von normaler Konsistenz. Die dunkelrote Farbe der Pulpa wird an der Luft mehr und mehr hellrot. Die Leber ist dunkelbraunrot, ziemlich blutreich, ohne auffallende Veränderungen. Die Nieren sind unverändert. Die Harnblase ist mit hellgelbem klaren Harn gefüllt. Im mäßig gefüllten Pansen zerkleinerte Heumassen und Milchkoagula. Die Labmagenschleimhaut ist leicht gerötet und geschwollen und mit vereinzelten stecknadelkopfgroßen Blutungen durchsetzt. Der Leerdarm ist durch Gase mäßig aufgetrieben. Die Gefäße des Dünndarmes sind etwas stärker injiziert; in der Schleimhaut vereinzelt kleine Blutungen. Im ganzen sind die Veränderungen am Dünndarm ziemlich unerheblich. Die Hauptveränderungen finden sich im Blind-, Grimm- und Mastdarm. Im Blind- und Grimmdarm ist die Schleimhaut gerötet und geschwollen, es zeigen sich ziemlich häufig stecknadelkopf- bis hirsekorngroße Blutungen. Im hinteren Teile des Mastdarmes sind die Höhen der Schleimhautfalten stark gerötet und mit kleinen Blutungen besetzt. Die Mesenteriallymphdrüsen sind leicht geschwollen.

Das Rippenfell und Lungenfell ist überall gleichmäßig spiegelnd und glatt. Die Lungen sind überall lufthaltig, hellrosa und von normaler Konsistenz. Sie befinden sich im Retraktionszustande. Nur im rechten Vorderlappen ist ein etwa fünfmarkstückgroßer, dunkelroter, unter dem Niveau der sonstigen Lungenoberfläche liegender atelektatischer Herd. In den Bronchien feinblasiger, weißer Schaum. Im Herzbeutel kein abnormer Inhalt. Die Gefäße des Peri- und Epikards sind stärker injiziert. Die größeren Venen mit schwarzem Blute gefüllt, das sich an der Luft allmählich heller rot färbt. Unter dem Epikard vereinzelte bis linsengroße Petechien; desgleichen vereinzelte stecknadelkopfgroße Petechien unter dem Endokard. In der rechten Herzkammer und den großen Gefäßen dunkelrote Blutkoagula, die sich an der Luft nach und nach hellrot färben, In den langen Röhrenknochen findet sich festweiches, rotes Knochenmark, das

sich nach dem Durchsägen der Knochen in der Querrichtung etwas von der Schnittfläche zurückzieht.

Die verfütterten Gärtnerbazillen konnten mit Grün- und Drigalskiplatten nachgewiesen werden in: 1. Inhalt des Dünn- und Dickdarms, 2. Harn, 3. Mesenteriallymphdrüsen, 4. Milz, 5. Leber, 6. Nieren, 7. Lungen, 8. Herzblut. Keine Gärtnerbazillen fanden sich im Pansen und Labmagen. Auf den Grünplatten und Drigalskiplatten, die mit Knochenmark und mit Muskulatur von den verschiedensten Stellen beschickt worden waren, wuchsen nur ganz vereinzelt Gärtnerbazillenkolonien; auf den Drigalskiplatten gingen sie besser und reichlicher auf als auf den Grünplatten. Einige Grünplatten blieben steril, während sich auf den parallelen Drigalskiplatten vereinzelte blaue Keime entwickelten. Dieser wie auch andere von uns untersuchte Fälle (vergl. S. 530, 531) haben die wichtige Tatsache erkennen lassen, daß bei allgemeiner, durch den Bacillus enteritidis Gärtner hervorgerufener Sepsis bei Kälbern die pathologisch-anatomischen Erscheinungen, aus denen auf das Vorliegen einer Septikämie geschlossen werden kann, nur sehr geringfügig sein können. Dasselbe gilt für Parakoliinfektionen. Es sind demnach die diesbezüglichen Angaben von Jensen nicht allgemein zutreffend (vgl. S. 519). Für die Ausstreuung der Gärtnerbazillen seitens kranker Kälber kommt in erster Linie der Kot, dann aber auch, wie die bakteriologische Untersuchung des Kalbes V gezeigt hat, der Harn in Betracht.

Kalb Nr. VI, männlich, etwa 14 Tage alt, $40^1/_2$ kg schwer, Freßlust sehr gut. Keinerlei Gesundheitsstörungen wahrnehmbar. Es wurde in derselben Weise gefüttert wie Kalb Nr. V. Nach sechstägiger Beobachtung erhielt das Tier 50 ccm einer 48stündigen menschlichen Paratyphus-B-Bouillonkultur, die in der Menge von einer Öse subkutan weiße Mäuse in 3—6 Tagen tötete. Vor dem Versuche wurde der normale Kot des Kalbes mittels Grünplatten untersucht. Kein Wachstum. Innerhalb der ersten acht Tage nach der Infektion wurde eine Störung des Allgemeinbefindens nicht beobachtet; auch konnten die einverleibten Bakterien im Kote nicht nachgewiesen werden. Zur Anreicherung an Agglutininen im Blutserum ist es während dieser Zeit nicht gekommen. Acht Tage nach der versuchten Infektion verlief ein Agglutinationsversuch mit Serum in einer Verdünnung von 1 : 10 negativ.

Ausgehend von der Erwägung, daß die menschlichen Paratyphus-B-Bazillen nicht primär bei Kälbern Ruhr erzeugen, sondern daß vielleicht die durch sie veränderte Milch der wesentliche Faktor sei, erhielt das Kalb jetzt (8 Tage nach der ersten Infektion) 200 ccm Milch, in der seit 24 Stunden derselbe Paratyphus-B-Stamm bei 37° C gezüchtet worden war.

Innerhalb der ersten acht Tage nach dieser Infektion konnte bei dem Kalb eine Gesundheitsstörung nicht festgestellt werden; die Mastdarmtemperatur bewegte sich zwischen 39 und 39,7°. Am 9. Tage betrug die Abendtemperatur 40,1°. Der in normaler Menge abgesetzte Kot war dünnflüssiger, übelriechender als zuvor und von graugrünlicher Farbe.

Am 10. Tage Morgentemperatur 39,6°; Abendtemperatur = 39,8°. Freßlust vermindert. Am 11. Tage Morgentemperatur 39,8°; Abendtemperatur = 40,1° C. Allgemeinbefinden wie am vorhergehenden Tage.

Am 12. Tage Morgentemperatur 39,9°; Abendtemperatur 40,1°. Am 13. Tage Morgentemperatur 40,8°; Abendtemperatur 40,6° C. Am 14. Tage Morgentemperatur 39,9°; Abend-

temperatur 40,2°. Der in vermehrter Menge abgesetzte Kot ist graugelb, dünnflüssig und stinkend. Das Kalb nimmt nur $1\frac{1}{2}$ l Milch und $\frac{1}{2}$ l Leinsamenabkochung auf. Am 15. Tage Morgentemperatur 40,0°; Kalb wird geschlachtet. Gewicht 53 kg. Bis zum 5. Tage nach der Milchkulturinfektion ließen sich die verfütterten Bazillen im Kote nachweisen, später nicht mehr.

Am besten gelingt, wie unsere Versuche gezeigt haben, der Nachweis der Typhaceen, die auf der Grünplatte wachsen und diese entfärben, im Kote, wenn man zunächst die Kotteilchen in sterile Bouillon bringt und 24 Stunden bei 37° C hält und dann aus der bebrüteten Bouillon Ausstriche auf der Grünplatte macht. Kolibazillen werden auch bei Bouillonausstrichen auf der Grünplatte unterdrückt. Selbstverständlich sind die wachsenden und entfärbenden Bakterien immer durch Agglutination bestimmt worden. Das Blutserum des geschlachteten Kalbes agglutinierte den verfütterten Paratyphus-B-Bazillus selbst in einer Verdünnung von 1 : 10 nicht.

Der Obduktionsbefund des geschlachteten Kalbes war bis auf die Befunde der Leber und des Dünndarms negativ. Fast die linke Hälfte der Leber war weißgrau, derbe, trocken, die acinöse Zeichnung verwischt, und deutlich vom gesunden rotbraunen Lebergewebe abgesetzt. Der Dünndarm war an einzelnen Stellen fleckig gerötet. Die Schleimhaut leicht geschwollen und auf der Höhe der Falten leicht gerötet. Die Lymphdrüsen des Darmes waren nicht wesentlich verändert. Auf Paratyphusbazillen wurden untersucht: Herzblut, Lungen, Milz, Leber, Galle, Nieren, Harn, Dickdarm- und Dünndarminhalt, Abstirche von der Schleimhaut verschiedener Darmteile, Mesenteriallymphdrüsen, Pansen- und Labmageninhalt. Das Ergebnis war überall negativ. Das Kalb war also durch die Milchkultur von menschlichen Paratyphusbazillen nicht infiziert worden. Ein gleichaltriges Kalb (Nr. VII) wurde zu einem Inhalationsversuch benutzt. Es erhielt von der Paratyphus-B-Bouillonkultur vermittels des von Kossel und Weber konstruierten Inhalationsapparates 40 ccm mit der Atmungsluft zugeführt. Dauer der Inhalation 10 Minuten. Eine Gesundheitsschädigung trat hiernach nicht ein. Die Paratyphusbazillen konnten im Kote nicht nachgewiesen werden, auch erlangte das Blutserum des Kalbes keine agglutinierenden Eigenschaften.

Der Ausfall dieser letzten Versuche stimmt überein mit dem Ergebnis der wenigen in der Literatur verzeichneten Infektionsversuche an Kälbern mit menschlichen Paratyphus-B-Bazillen. So impften Kutscher und Meinicke subkutan zwei etwa 6 Wochen alte Kälber mit je 1 Öse eines für Meerschweinchen hochvirulenten Stammes und erzielten bei diesen nur eine vorübergehende fieberhafte Reaktion.

Fütterungsversuche an größeren Versuchstieren mit menschlichen Paratyphus-B-Bazillen, die von Kolle, Kutscher und Meinicke an Kälbern, Ziegen, Schafen, Hunden, Pferden angestellt worden sind, hatten kein sicheres positives Ergebnis. Zwei Kälber und eine junge Ziege erkrankten nach Verfütterung je eines Erlenmeyerschen Kölbchens 24stündiger Bouillonkultur in Milch zwar an Durchfällen unter gleichzeitigem Fieber; jedoch ließen sich weder in den Darmschlingen noch im Blut der Tiere trotz wiederholter Untersuchungen Paratyphusbazillen nachweisen. Das Blutserum der gefütterten Tiere zeigte auch keine spezifische Reaktion auf Paratyphusbazillen. Ebenso fiel nach der Tötung der Versuchstiere die kulturelle Untersuchung der Organe negativ aus.

Aus diesen Versuchen geht demnach nicht hervor, daß eine Infektion der Tiere stattgefunden hatte.

Kutscher meint, daß die Durchfälle und die Steigerung der Körperwärme vielleicht lediglich durch Resorption endotoxischer Substanzen der im Darme massenhaft zerfallenden Paratyphusbakterien ausgelöst wurden.

Aus unseren Infektionsversuchen ergibt sich, daß man durch verfütterte Parakoli- und Gärtnerbazillen in ziemlich geringer Menge bei Saugkälbern Krankheiten hervorrufen kann, die in den Erscheinungen, dem Verlauf und der Ansteckungsfähigkeit vollkommen mit der Kälberruhr übereinstimmen.

Die verfütterten Bakterien konnten im Herzblute, in den großen Körperdrüsen, dem Knochenmark und den Muskeln der gestorbenen Kälber nachgewiesen werden.

Dabei können die pathologisch-anatomischen Erscheinungen, aus denen auf das Vorliegen einer Septikämie geschlossen werden kann, nur sehr geringfügig sein.

Für die Ausstreuung der pathogenen Bakterien kommt vor allem der Kot in Betracht. Die Bakterien können aber auch mit dem Harne ausgeschieden werden.

Ältere Kälber sind ebenfalls mit den genannten Bakterien zu infizieren.

Eine Infektion bei Kälbern durch Verfütterung und Inhalation großer Mengen menschlicher Paratyphus B-Bazillen gelang nicht. Auch in der Literatur findet sich kein derartiger Fall mit sicherem positivem Ergebnis beschrieben.

4. Versuche mit filtriertem Material.

In unserem Vortrage auf der 2. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie (12. Juni 1908) und in einer kurzen Mitteilung in der Berliner tierärztlichen Wochenschrift (1908, Nr. 26) haben wir hinsichtlich der ätiologischen Untersuchungen über Kälberruhr und Kälberpneumonie auf Grund der anderweitig bestätigten Untersuchungen von Ostertag und Stadie über die deutsche Schweinepest auf die Notwendigkeit hingewiesen, Infektionsversuche mit keimfrei filtriertem Material von Kälberruhr und Kälberpneumonie auszuführen.

Wir haben in dieser Richtung bisher folgende Infektionsversuche vornehmen können: Milzstückchen, Leber- und Lungenstückchen von einem Ruhrkadaver, in dem Gärtnerbazillen nachgewiesen worden waren, wurden in einer Fleischhackmaschine zerkleinert, und der so gewonnene Brei mit sterilen Leinentüchern ausgepreßt. Der Preßsaft wurde im Verhältnis 1 : 3 mit 0,8% NaCl-Lösung verdünnt und durch gewöhnliches Filtrierpapier, sodann durch eine Schicht steriler Watte filtriert. Gleichzeitig wurden die Blutkoagula in demselben Verhältnis mit 0,8% NaCl-Lösung versetzt und im Schüttelapparat bei Lichtabschluß zwei Stunden lang geschüttelt. Diese Flüssigkeit wurde nun mit dem Organpreßsaft vermengt, und das Ganze mittels Wasserstrahlluftpumpe durch ein nicht zu fest gestopftes Heimsches Asbestfilter gesogen. Hierauf folgte die Filtration durch die Berkefeldkerze in bekannter Weise. Das Filtrat wurde drei Tage im Brutschranke bei 37° auf Keimfreiheit beobachtet und nur dann benutzt, wenn es vollkommen klar geblieben war. Die Schwierigkeit der sterilen Filtration erklärt es, daß man häufig mit Mißerfolgen zu rechnen hat, also kein keimfreies Filtrat be-

kommt. Wir teilten die Ausgangsflüssigkeit in mehrere Teile und behandelten jeden für sich, um so in dem einen oder anderen Falle wirklich einwandfreies Filtrat zu erhalten. Da die Technik der keimfreien Filtration anderweitig genügend beschrieben ist, soll hier auf weitere Einzelheiten nicht eingegangen werden.

Von dem sterilen Filtrate erhielt:

1. ein 12 Wochen altes, gesundes, gut entwickeltes Kalb 50 ccm subkutan und gleichzeitig 160 ccm per os. Gesundheitsstörungen traten darnach nicht auf.

2. Ein drei Wochen altes gesundes Kalb erhielt subkutan 30 ccm steriles Filtrat, hergestellt aus den krankhaft veränderten Lungenteilen eines an Kälberpneumonie verendeten Kalbes. Das Versuchskalb zeigte keine Krankheitserscheinungen.

3. Nach 4 Tagen erhielt dasselbe Tier subkutan 50 ccm defibriniertes, unfiltriertes Blut von einem drei Monate alten Kalbe, das an Pneumonie verendet war. In den veränderten Lungenteilen des verendeten Kalbes ließen sich weder kulturell (Agar, Blutagar, Rinderserum, Bouillon, Serumbouillon) noch durch Impfung von weißen Mäusen Bakterien nachweisen, ebenso hatten die gefärbten Ausstriche bei mikroskopischer Besichtigung ein negatives Ergebnis; dagegen waren in dem Kote des verendeten Kalbes ziemlich reichlich Gärtnerbazillen gefunden worden. Gesundheitsstörungen zeigten sich bei dem mit dem bezeichneten Materiale geimpften Kalbe nicht. Nach weiteren 6 Tagen wurden dem Kalbe per os 300 ccm steriles Filtrat aus dem mit 0,8 % Kochsalzlösung versetzten und geschüttelten Blute und den Blutgerinnseln des Herzens und der großen Venenstämme eingegeben, die von einem an Ruhr verendeten Kalbe herrührten, in dessen Herzblute und inneren Organen nur Ruhrkolibazillen nachgewiesen werden konnten. In den nächsten 8 Tagen traten bei dem so mit Filtrat gefütterten Kalbe Krankheitserscheinungen nicht auf. Am neunten Tage stellte sich bei unverändert guter Freßlust leichter Durchfall ein, der 5 Tage lang anhielt.

In dem Kote fanden sich vom ersten Tage des Einsetzens des Durchfalls an reichlich Gärtnerbazillen, die 13 Tage hindurch nachgewiesen werden konnten. Agglutinationsfähigkeit für den aus dem Kote isolierten Bakterienstamm, sowie für einen zum Vergleiche herangezogenen anderen Gärtner-, einen Parakoli- und einen Paratyphus-B-Stamm erlangte das Blutserum des Kalbes nicht. Das Tier erholte sich vollständig.

4. Ein acht Tage altes, gesundes Kalb erhielt intravenös 10 ccm steriles Filtrat, hergestellt aus den ovoide Bakterien enthaltenden veränderten Lungenstücken eines Kalbes, das an septischer Pneumonie verendet war, und in dessen Kot ziemlich reichlich Gärtnerbazillen enthalten waren.

Nach 3 Tagen trat bei guter Freßlust starker Durchfall auf: weißer, dünnflüssiger, übelriechender Milchkot. Der Durchfall hielt 8 Tage lang an, worauf in einigen Tagen völlige Genesung eintrat. Auch bei diesem Kalbe konnten im Kote 14 Tage lang Gärtnerbazillen nachgewiesen werden. Das Blutserum des Tieres agglutinierte den aus dem Kot gezüchteten Gärtnerstamm nicht und verhielt sich gleichzeitig negativ gegen einen anderen Gärtnerstamm, einen Parakolistamm und einen menschlichen Paratyphus-B-Stamm. Im Blute ließen sich weder beim Beginn des Duchfalles noch 6 Tage später durch Blutbouillonkulturen Bakterien ermitteln.

5. Von einem Kalbe, das an Ruhr und Pneumonie verendet war, und bei dem eine Überschwemmung der Organe mit Gärtnerbazillen nachgewiesen wurde, ist wie im ersten Falle steriles Filtrat hergestellt worden. Hiervon erhielt ein 8 Tage altes, gesundes Kalb, das 2 Tage vorher eingeliefert war, 50 ccm subkutan und 30 ccm per os. Zwei Tage nach der Einverleibung des Filtrates erkrankte das Kalb an Ruhr, an der es nach 4 weiteren Tagen verendete.

Obduktionsbefund: Mäßig genährter Kadaver; Totenstarre vorhanden. Schwanz und Umgebung des Afters mit gelblichem Milchkot verschmiert. Im freien Raume der Bauchhöhle drei Eßlöffel voll einer trüben, leicht rötlichen Flüssigkeit. Lage der Darmteile normal. Bauchfell überall glatt und glänzend. Milz nicht vergrößert. Milzkapsel leicht gerunzelt. Pulpa festweich, nicht über die Schnittfläche vorquellend. Leber, Niere und Harnblase ohne Veränderungen. Desgleichen die Organe der Brusthöhle.

Der Verdauungskanal zeigte das Bild einer Gastroenteritis: Rötung und Schwellung der Darmschleimhaut und vereinzelt kleine Blutungen.

Sowohl Gärtnerbazillen (überwiegend) wie auch Parakolibazillen fanden sich im ganzen Darmkanal, in den Mesenterialdrüsen, der Leber, Milz, Niere, Lungen, Knochenmark, dem Herzblute und der Muskulatur.

6. Das Herzblut des Kalbes unter 5 wurde steril filtriert und in der Menge von 25 ccm einem zehn Tage alten Kalbe unter die Haut gespritzt. Dieses Tier blieb völlig gesund.

Bei der Mehrzahl unserer allerdings nur in geringer Zahl verwendeter Kälber sind nach Verimpfung von sterilem Filtrat, dessen Herstellung und Ursprung vorstehend angegeben sind, Durchfälle aufgetreten. Eins der behandelten Tiere ist gestorben. Diese Versuche könnten zur Annahme führen, daß das Virus der Kälberruhr filtrierbar sei, und daß die in den Organen gefundenen Bakterien erst sekundär aus dem Darme eingewandert seien. Wir haben eine Analogie bei der Schweinepest, bei der auch nach Infektion mit dem filtriebraren Virus bestimmte Darmbakterien im Darme gehäuft auftreten und vom Darm in die Blutbahn übertreten. Indessen sind die vorstehenden Versuche keineswegs ausreichend, um eine derartige Folgerung bei der Kälberruhr zu rechtfertigen. Zunächst spricht gegen die Annahme eines filtrierbaren Virus bei der Kälberruhr der Umstand, daß in dem Versuche Nr. 5 die Weiterübertragung der Krankheit mit Blutfiltrat nicht geglückt ist. Doch weiß man bei der Schweinepest, daß die Übertragbarkeit mit Filtrat plötzlich aufhören kann, wie auch ähnliches von Löffler bei der Maul- und Klauenseuche, deren Erreger bekanntlich ebenfalls filtrierbar ist, beobachtet wurde. Ferner spricht gegen die Existenz eines filtrierbaren Virus bei der Kälberruhr die Tatsache, daß es gelingt, mit geringen Mengen der oben als Kälberruhrerreger bezeichneten Bakterien bei gesunden Milchkälbern und selbst bei älteren Tieren typische Ruhr mit kontagiösem Charakter zu erzeugen. Eine gewisse Unbefriedigung erweckt bei dem Ergebnis der ätiologischen Forschungen über Kälberruhr die Mannigfaltigkeit der Bakterienbefunde in den einzelnen Enzootien, also der Umstand, daß eine den klinischen Erscheinungen und dem Verlaufe nach einheitliche Kälberseuche in ursächlicher Beziehung eine solche Vielheit darstellt. Die infektionbefördernde Wirkung von sterilen Blut- und Organfiltraten, die aus unseren Versuchen hervorzugehen scheint, läßt natürlich auch eine andere Erklärung

zu als die Annahme eines filtrierbaren Virus. Die Toxine der Gärtner- und Parakolibazillen gehen natürlich mit in das Filtrat über und können schon für sich allein nach ihrer Einverleibung Erscheinungen der Kälberruhr hervorrufen. Ferner werden wir noch feststellen, ob die in gleicher Weise hergestellten Filtrate aus Organen von gesunden Kälbern oder von Rindern, die an ganz anderen Krankheiten verendet sind, nicht ähnliche infektionbefördernde Wirkungen auslösen.

5. Fütterungs- und Impfversuche mit den aus Ruhrfällen isolierten Bakterienarten an andern Versuchstieren als Kälbern.

Durch die Fütterungs- und Impfversuche an andern Tieren als an Kälbern sollte festgestellt werden, ob und in welchem Grade andere Tiere für die bakterielle Kälberruhr empfänglich sind und ob sie, ohne sichtbar zu erkranken, eine Rolle als Keimverschlepper zu spielen vermögen.

Zu den nachstehend geschilderten Fütterungs- und Impfversuchen verwendeten wir regelmäßig 24stündige bei 37° C gut gewachsene Bouillon- und Agarkulturen.

I. Fütterungsversuche. Mit jeder der der Prüfung unterworfenen Kulturen wurden zwei in einem frisch sterilisierten Mäuseglas zusammengesetzte ausgewachsene weiße Mäuse einmal gefüttert, und zwar mit je 6 ccm Bouillonkultur, die in Brotstückchen eingesogen war. Der Boden der Mäusegläser wurde mit Holzwolle bedeckt. Die Mäuse mußten vorher 24 Stunden hungern. Verfüttert wurden insgesamt 40 Kälberruhrkolistämme verschiedener Herkunft, zur Kontrolle 5 Kolistämme von gesunden Tieren, ferner 2 Aërogenes-, 5 Pseudokoli-, 2 menschliche Paratyphus-B-, 5 Parakoli-, 5 Gärtner- und 2 Proteusstämme. Das mit genannter Kulturmenge getränkte Brot wurde von den Mäusen gern gefressen.

Das Ergebnis der an Mäusen angestellten Versuche war folgendes: Die größte Infektiosität zeigten die Parakoli- und Gärtnerstämme. Je 10 mit diesen Kulturen gefütterte Mäuse starben sämtlich innerhalb 8 Tagen. Von den 10 mit Paratyphus-B gefütterten Mäusen starben 5 in 11 Tagen; von den 10 mit Pseudokolibazillen gefütterten 3 in 11 Tagen. Die Kälberruhrkolistämme und die gewöhnlichen Kolistämme waren für Mäuse nicht pathogen. Von den 4 mit Proteusbazillen gefütterten Mäusen starb eine, von den 4 mit B. aerogenes keine. In allen Fällen ließen sich bei den verendeten Mäusen die verfütterten Bakterien im Herzblut nachweisen.

Ferner wurden in 15 Käfigen je drei Meerschweinchen von 350—400 g Gewicht nach 24stündigem Hungern einmal mit je 10 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur von 8 Kälberruhrkoli-, 2 normalen Darmkoli-, 1 Paratyphus-B-, 2 Parakoli- und 2 Gärtnerstämmen gefüttert. Aus den Versuchen ergab sich, daß Meerschweinchen durch einmalige Fütterung mit Kälberruhrkoli- und Darmkolibakterien von gesunden Tieren in angegebener Menge nicht tödlich infiziert werden können. Gegenüber Paratyphus-B-, Parakoli- und Gärtnerbazillen erwiesen sich die Meerschweinchen widerstandsfähiger als weiße Mäuse. Von den 3 mit Paratyphus-B-Bazillen gefütterten Meerschweinchen starb 1 nach 12 Tagen; von den 6 mit Parakoli gefütterten starben 4 und von den 6 mit Gärtnerbazillen gefütterten 3 innerhalb 10 Tagen.

Ein 6 Monate alter *Hund*, männlicher Terrierbastard, wurde dreimal an einem Tage jedesmal mit 100 ccm einer 24stündigen Parakolibouillonkultur, vermischt mit abgekochter Milch, gefüttert. Innentemperatur des Hundes 38,5° C. Am nächsten Tage war der Hund noch munter, er bekam leichten Durchfall. Am 2. Tage hatte der Hund 40,5° Temperatur und war sehr matt. Nasenspiegel trocken, Maulschleimhaut gerötet und mit zähem Schleim belegt. Stark übelriechender, graugelber, dünnflüssiger Kot wurde in erheblicher Menge abgesetzt. Vom 4. Tage an erholte sich der Hund sehr rasch und war nach 8 Tagen wieder vollständig munter. Im Blut ließen sich bei wiederholten Untersuchungen mikroskopisch und kulturell niemals Bakterien nachweisen, auch erlangte das Blut keine agglutinierenden Eigenschaften gegenüber dem verfütterten Stamme. Die betr. Bakterien konnten wir bis zum 7. Tage nach der Fütterung im Kote nachweisen. 26 Tage nach der Fütterung wurde der gesunde Hund getötet. Pathologische Veränderungen waren nicht vorhanden. Es gelang auch nicht, die Parakolibazillen im Darminhalt, der Darmschleimhaut, den Mesentrialdrüsen, der Gallenblase, der Leber und den übrigen inneren Organen nachzuweisen.

Ein erwachsenes *Schaf*, dessen Serum Gärtnerbazillen nicht agglutinierte (1:10 negativ), erhielt 10 ccm einer 48stündigen Gärtnerbazillenkultur eingeschüttet. Krankheitserscheinungen traten darnach nicht auf. *Nach 9 Tagen agglutinierte das Serum des Schafes den verfütterten Stamm* bis 1 : 150. Im Kote waren Gärtnerbazillen mit dem Grünplattenverfahren nicht nachzuweisen. Nach 14 Tagen zeigte sich der Agglutinationstiter unverändert. Nach 23 Tagen war die Agglutination in einer Verdünnnng von 1 : 50 positiv, in einer Verdünnung von 1 : 100 dagegen negativ. Nach 37 Tagen (Agglutinationstiter 1 : 50) bekam das Schaf eine 24stündige Agarkultur desselben Stammes per os. Keine Krankheitserscheinungen. Die agglutinierenden Eigenschaften des Serums klangen völlig ab und nahmen auch nicht wieder zu, als das Schaf 49 Tage nach der ersten Bakterienfütterung 50 ccm einer 48stündigen Bouillonkultur desselben Stammes per os erhielt. Hiernach traten Krankheitserscheinungen nicht auf. Die verfütterten Bakterien konnten noch 3 Wochen nach der letzten Fütterung nachgewiesen werden; nach 4 und 5 Wochen dagegen nicht mehr.

Ein anderes erwachsenes Schaf, dessen Serum Paratyphus-B-Bazillen nicht agglutinierte (1 : 10 negativ), erhielt am 13. 7. 08 per os 10 ccm einer 48stündigen Bouillonkultur eines aus einem Kalbskadaver gezüchteten Paratyphus-B-Stammes. Keine Krankheitserscheinungen. Am 22. 7. 08 war die Agglutinationsfähigkeit des Blutserums bis 1 : 40 positiv, 1 : 50 negativ. Im Kote ließen sich keine Paratyphus-B-Bazillen nachweisen. Am 27. 7. 08 war die Agglutination in einer Verdünnung von 1 : 100 positiv, 1 : 150 negativ.

Am 5. 8. 08 1 : 50 positiv, 1 : 100 negativ. Am 19. 8. 08 erhielt das Schaf eine 24stündige Agarkultur desselben Stammes per os. Keine Reaktion. 28. 8. 08: Agglutination 1 : 20 positiv, 1 : 30 negativ.

31. 8. 08: Das Schaf erhielt per os 50 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur desselben Stammes. Keine Krankheitserscheinungen. Am 10. 9. 08 keine Aggluti-

nation. Die Paratyphusbazillen konnten bis zum 16. Tage nach der letzten Bakterienfütterung im Kote nachgewiesen werden.

II. Impfversuche. Die Impfversuche wurden in größerem Umfange an weißen Mäusen ausgeführt.

Vierzig weiße Mäuse wurden je mit $^1/_2$ Öse 24stündiger Agarkultur von 20 verschiedenen Kälberruhrkolistämmen subkutan geimpft; es starben innerhalb 12 Tagen 4 Mäuse. Im Herzblut konnten Kolibakterien erst einige Zeit nach eingetretenem Tode nachgewiesen werden. Daraus schließen wir, daß wir es aller Wahrscheinlichkeit nach mit interkurrenten Todesfällen zu tun hatten und mit einer postmortalen Einwanderung gewöhnlicher Kolibakterien aus dem Darm in das Blut.

Von 8 mit Pseudokoli in gleicher Weise geimpften Mäusen starben innerhalb 10 Tagen 3.

Ferner wurden auf Mäusepathogenität geprüft 7 verschiedene Paratyphus-B-Stämme, von denen 4 aus Kälberruhrkadavern und 3 vom Menschen stammten. Die geimpften 28 Mäuse starben alle innerhalb 12 Tagen; in der Mehrzahl der Fälle nach 2—6 Tagen und, wie die bakteriologische Untersuchung ergab, infolge der eingespritzten Bakterien.

Ein Unterschied in dem Pathogenitätsgrade gegenüber Mäusen zwischen unseren 4 Kälberruhr-Paratyphus- und den 3 menschlichen Paratyphusstämmen wurde nicht beobachtet. Ebenso wie die genannten Stämme verhielt sich ein zum Vergleich herangezogener B. suipestifer und ein B. typhi murium.

Folgender übereinstimmender Befund wurde bei den mit den aufgeführten Typhaceenvarietäten geimpften und darnach verendeten Mäusen erhoben: An der kaum veränderten Impfstelle fanden sich die eingeimpften Bakterien in großer Zahl. Im Herzblute waren in der Regel mikroskopisch nur spärlich Bakterien nachweisbar. Auf Ausstrichen von Herzblut auf Schrägagar wuchsen einzelne, nicht zusammenhängende Kolonien. In den meisten Fällen konnten mit dem Grünplattenverfahren Bakterien in der Muskulatur nicht nachgewiesen werden. Brachten wir aber ein Stückchen der steril entnommenen Muskulatur zunächst 24 Stunden in Bouillon bei 37° C, dann erhielten wir Reinkulturen der verimpften Bakterien. Stets konnten mit dem Grünplattenverfahren im Dickdarminhalte der verendeten Mäuse Paratyphus-B-Bazillen reichlich nachgewiesen werden. Hieraus folgt die für die Ausstreuung der Typhaceen wichtige Tatsache, daß von den infizierten Tieren unabhängig vom Infektionsmodus die pathogenen Keime mit dem Kote in großer Menge ausgeschieden werden.

Von pathologisch-anatomischen Veränderungen trat neben einem mehr oder weniger starken Milztumor eine leichte Enteritis in Erscheinung.

Die mit Kälberruhrkolistämmen und Kolistämmen aus gesunden Tieren an Meerschweinchen vorgenommenen subkutanen Impfversuche ergaben, daß Mengen von 1 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur sowohl bei subkutaner, als auch bei intraperitonealer Injektion ohne besonderen Nachteil vertragen wurden; sämtliche Meerschweinchen blieben am Leben.

Gegenüber Paratyphus-B-, Parakoli-, Gärtnerbazillen erwiesen sich Meerschwein-

chen bei intraperitonealer Applikation als sehr empfindlich. Je zwei in einem Käfig untergebrachte Meerschweinchen erhielten intraperitoneal $^1/_{100}$ und $^1/_{50}$ Öse virulente 24 stündige Agarkultur von einem Paratyphus-B-, zwei Parakoli- und drei Gärtnerstämmen in steriler 0,8 $^0/_0$iger NaCl-Lösung verrieben. Alle Tiere starben innerhalb 12 Tagen, außer dem Meerschweinchen, das $^1/_{100}$ Öse Paratyphus-B-Bazillen erhalten hatte. Die verendeten Tiere zeigten seröse und serös-fibrinöse Peritonitis, markige Schwellung der Lymphdrüsen, Hyperämie der Leber und Milz. Der Herzmuskel war graurot und getrübt, das Blut gut geronnen.

Einige Kaninchenimpfversuche führten wir gelegentlich der Herstellung von agglutinierenden Seren mit Paratyphus-B-, Parakoli und Gärtnerstämmen aus. $^1/_{50}$ Öse 24stündiger Agarkultur von Gärtner- oder Parakolibazillen intravenös eingespritzt, tötete Kaninchen von durchschnittlich 2000 g Gewicht stets innerhalb 48 Stunden, während Paratyphus-B-Bazillen in Mengen von $^1/_{10}$ Öse einer 24stündigen Agarkultur bei intravenöser Injektion meist verhältnismäßig gut ertragen wurden. Bei der Herstellung agglutinierender Kaninchensera hat man demnach äußerst vorsichtig zu verfahren, wenn man Tierverluste vermeiden will. Wir begannen mit subkutaner Injektion von Bakterien, die durch Erhitzen abgetötet waren, um dann allmählich auf virulente überzugehen.

Nachstehende Folgerungen ergeben sich aus den Infektionsversuchen an kleinen Versuchstieren:

1. Die Ruhrkolibazillen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Pathogenität für kleine Versuchstiere in keiner Weise von den gewöhnlichen Kolibakterien. Sie zeigen wie diese kein nennenswertes Pathogenitätsvermögen.

2. Am virulentesten für kleine Versuchstiere sind die Gärtner- und Parakolibazillen. Hierauf folgt die Gruppe der Paratyphus-B-Bazillen.

6. Untersuchungen über die Toxinbildung der Kälberruhrbakterienstämme.

Um über die etwaige Bildung von Toxinen in Bouillonkulturen bei einigen unserer Kälberruhrstämme Klarheit zu gewinnen, wurden nachstehende Versuche in der Weise ausgeführt, daß die zu untersuchenden Bouillonkulturen zunächst $^1/_2$ Stunde lang mit der elektrischen Zentrifuge ausgeschleudert wurden. Die so bakterienarm gemachte Kulturflüssigkeit wurde dann durch ein Berkefeldfilter filtriert, und das Filtrat nur zu Versuchen verwendet, wenn es nach mindestens 3tägigem Verweilen im Brutschranke bei 37 ° C klar geblieben war. In einigen Fällen wurde von dem Zentrifugieren der Bouillonkulturen Abstand genommen. Wo dies geschehen ist, ist es besonders erwähnt.

I. Versuche mit drei aus Kälberruhrkadavern isolierten Stämmen, die sich nicht von dem menschlichen B. paratyphosus B unterscheiden ließen. Wir werden die Stämme mit St. A., St. B. und St. C. bezeichnen.

16. 2. 08: Zwei erwachsene Meerschweinchen erhielten je 5 ccm eines sterilen Filtrates aus einer 24 stündigen Bouillonkultur von St. A. intraperitoneal eingespritzt. Beide Tiere blieben gesund.

24. 2. 08: Von demselben Stamme, aber einem Filtrate aus einer acht Tage alten Bouillonkultur erhielt je ein erwachsenes Meerschweinchen 5 und 10 ccm intraperitoneal. Das Meerschweinchen mit 5 ccm war am folgenden Tage krank, es erholte sich aber im Laufe der nächsten Tage wieder. Das mit 10 ccm gespritzte Meerschweinchen starb am 27. 2. (3 Tage nach der Injektion). Sektionsbefund: Seröse Peritonitis, Hyperämie der Leber, Milz und der Nieren.

26. 3. 08. Filtrat aus drei Wochen alter Bouillonkultur von St. A.: Zwei erwachsene Meerschweinchen erhielten 5 und 10 ccm intraperitonal. Beide Meerschweinchen starben drei Tage nach der Injektion.

Ein zahmes Kaninchen im Gewicht von 1200 g erhielt 2 ccm intravenös und starb nach 48 Stunden. Desgleichen erhielt ein erwachsenes wildes Kaninchen 2 ccm intravenös; es kränkelte einige Tage, wurde aber wieder gesund.

Dasselbe Filtrat wurde im Wasserbade eine Stunde auf 80 ° C erhitzt; 2 ccm wurden je einem zahmen (1000 g) und einem erwachsenen wilden Kaninchen intravenös eingespritzt. Beide Tiere blieben völlig gesund.

24. 2. 08. Zwei weiße Mäuse erhielten von dem Filtrat aus einer acht Tage alten Bouillonkultur St. A. (nicht zentrifugiert) 1 und 2 ccm intraperitoneal. Die mit 1 ccm behandelte Maus blieb am Leben, die mit 2 ccm behandelte starb nach 24 Stunden. Zwei weiße Mäuse, die je 0,5 ccm Filtrat subkutan erhalten hatten, zeigten keine Krankheitserscheinungen.

Von der gewöhnlichen sterilen Nährbodenbouillon vertrugen Mäuse intraperitoneal 2—3 ccm ohne Nachteil; desgleichen Meerschweinchen 10 ccm. Bei den Untersuchungen auf Toxinwirkung wurde den Kontrolltieren gleichaltrige sterile Bouillon in derselben Menge wie Filtrat eingespritzt, ohne daß die Tiere krank wurden. Durch diese Kontrollversuche, die auch bei den nachfolgenden Experimenten in der gleichen Weise geführt worden sind, sollte der Einwand ausgeschaltet werden, daß bestimmte Bestandteile der gewöhnlichen Nährbouillon, wie z. B. Pepton, giftig wirken könnten.

Aus einer und derselben Bouillonkultur von St. B. wurden sieben Tage lang täglich sterile Filtrate hergestellt, so daß letztere aus 1—8 Tage alten Kulturen stammten. Von diesen verschiedenaltrigen Filtraten erhielten täglich zwei weiße Mäuse je 2 ccm intraperitoneal eingespritzt. Alle blieben gesund. Weiterhin erhielten zwei weiße Mäuse je 2 ccm Filtrat aus dreiwöchigen und vierwöchigen Kulturen von St. B. intraperitoneal. Auch diese Mäuse blieben gesund.

Zwei Meerschweinchen wurden intraperitoneal je 5 ccm steriles Filtrat aus fünf Tage alten Bouillonkulturen desselben Stammes beigebracht. Die Tiere blieben gesund.

Aus drei Monate alter Bouillonkultur von St. B. bekamen drei erwachsene Meerschweinchen je 5 ccm steriles Filtrat subkutan. Sie blieben ebenso wie zwei Meerschweinchen, die je 10 ccm von demselben Filtrate subkutan erhalten hatten, am Leben.

18. 7. 08. Ein erwachsenes Schaf, dessen Blutserum Paratyphus-B-Bazillen nicht agglutinierte (1 : 10 negativ), wurde subkutan mit 10 ccm sterilem Filtrat aus sechs Tage alter Bouillonkultur St. B. geimpft. Keine Krankheitserscheinungen.

Am 27. 7. 08 agglutinierte das Serum des Schafes St. B. bis 1 : 50.

Am 4. 8. 08 erhielt das Schaf subkutan 10 ccm Filtrat aus 80tägiger Kultur St. B. Keine Krankheitserscheinungen.

5. 8. 08: Agglutination 1 : 50 negativ, 1 : 20 positiv.

28. 8. 08: Agglutination 1 : 10 positiv, 1 : 30 negativ.

29. 8. 08: Schaf erhielt 20 ccm steriles Filtrat aus drei Monate alter Bouillonkultur St. B. subkutan. Keine Krankheitserscheinungen. 10. 9. 08: Agglutination 1 : 10 positiv, 1 : 50 negativ.

20. 5. 08: Zwei Meerschweinchen erhielten intraperitonal 5 und 10 ccm steriles Filtrat aus sechs Tage alter Bouillonkultur von St. C. Die Meerschweinchen blieben gesund. Von demselben Filtrat erhielten zwei Mäuse je 1 ccm subkutan und blieben am Leben.

Alle drei Stämme erwiesen sich als in gleichem Grade für weiße Mäuse pathogen, da diese nach subkutaner Infektion mit einer kleinen Öse 24 stündiger Agarkultur nach 2 - 6 Tagen starben.

II. Versuche mit Gärtnerstämmen:

12. 3. 08: Ein Kaninchen (2400 g) erhielt intravenös 3 ccm steriles Filtrat aus einer 24 stündigen Bouillonkultur. Das Tier verweigerte am folgenden Tage die Futteraufnahme und war matt; es erholte sich aber im Verlaufe der nächsten beiden Tage vollkommen.

10. 4. 08: Ein Kaninchen (2000 g) bekam intravenös 5 ccm steriles Filtrat aus einer 5tägigen Kultur desselben Stammes. Es starb nach fünf Stunden unter Krämpfen.

6. 5. 08: Von demselben Filtrat erhielt ein Kaninchen (2000 g) intravenös 3 ccm. Es starb nach acht Tagen und zeigte nur starke Abmagerung. Ein zweites, gleichschweres Kaninchen erhielt intravenös 5 ccm Filtrat, das eine Stunde lang bei 80 ° C gehalten worden war. Dies Kaninchen blieb gesund.

5. 5. 08: Zwei erwachsenen Meerschweinchen wurden intraperitoneal 5 und 10 ccm keimfreies Filtrat aus einer 5tägigen Bouillonkultur desselben Stammes beigebracht. Das mit 5 ccm behandelte Meerschweinchen war am folgenden Tage ziemlich schwer krank, erholte sich aber in den nächsten Tagen. Das mit 10 ccm behandelte Tier starb nach 30 Stunden. Befund: Seröse Peritonitis und leichter Milchtumor. Im Herzblute, in Milz und Nieren waren weder mikroskopisch noch kulturell Bakterien nachweisbar.

15. 5. Zwei erwachsene Meerschweinchen bekamen intraperitoneal je 10 ccm steriles Filtrat aus einer 24stündigen Bouillonkultur. Die Tiere blieben gesund. Ebenso zeigten zwei weiße Mäuse, die mit je 2 ccm geimpft wurden, keine Krankheitserscheinungen. Von der sieben Tage alten Bouillonkultur desselben Stammes erhielten zwei weiße Mäuse subkutan je 1 ccm steriles Filtrat. Beide Mäuse starben nach zwei und drei Tagen.

Dasselbe Filtrat (aus 7tägiger Kultur) wurde 2 Minuten lang gekocht; auch jetzt noch tötete es zwei weiße Mäuse, die je 2 ccm subkutan erhalten hatten, nach etwa 36 Stunden.

Von dem fünf Minuten lang bei 100° C gehaltenen Filtrat wurde eine Maus mit 1 ccm, eine andere Maus mit 2 ccm subkutan geimpft. Beide Mäuse blieben am Leben. Zwei weiße Mäuse erhielten intraperitoneal je 2 ccm keimfreies Filtrat aus einer 10tägigen Bouillonkultur eines anderen Stammes. Beide Tiere blieben gesund.

18. 7. 08: Ein zweijähriges Schaf erhielt 7 ccm keimfreies Filtrat aus sechs Tage alter Bouillonkultur aus einem Ruhrkadaver stammend. Keine Krankheitserscheinungen.

27. 7. 08: Keine Agglutination des Blutserums gegenüber dem zum Filtrate verwendeten Stamme (1 : 10 negativ ebenso wie vor der ersten Injektion).

4. 8. 08: Dem Schafe wurden subkutan 10 ccm steriles Filtrat aus 79tägiger Bouillonkultur eingespritzt. Keine Krankheitserscheinungen.

5. 8. 08: Agglutination (1 : 10) negativ.

28. 8. 08: Desgl.

1. 9. 08: Das Schaf erhielt 10 ccm keimfreies Filtrat aus drei Monate alter Bouillonkultur. Keine Krankheitserscheinungen und keine agglutinierenden Eigenschaften des Blutserums.

Von dem Filtrate desselben Stammes aus 6tägiger Bouillonkultur erhielten zwei weiße Mäuse je 1 ccm subkutan und blieben gesund.

III. Versuche mit Parakolistämmen.

Zwei Meerschweinchen (250 und 275 g Gewicht) erhielten interperitoneal 5 und 10 ccm steriles Filtrat aus einer 48stündigen Bouillonkultur (nicht zentrifugiert). Beide blieben am Leben. Von demselben Stamme, aber aus 72 Stunden alter Bouillonkultur bekamen zwei etwa gleich schwere Meerschweinchen (250 g) 5 u. 10 ccm steriles Filtrat intraperitoneal einverleibt. Beide Tiere starben innerhalb 48 Stunden. Befund: Seröse Peritonitis und mäßiger Milztumor. In dem geringfügigen Peritonealexsudat und im Herzblute keine Bakterien.

Ein Kaninchen (2020 g) erhielt intravenös 5 ccm steriles Filtrat aus einer acht Tage alten Bouillonkultur eines anderen Parakolistammes. Der Tod trat ein nach 36 Stunden: geringe seröse Peritonitis, geringer Milztumor, Hyperämie der Leber und der Nieren, dünnbreiiger Kot.

Vom demselben Filtrat erhielten zwei Meerschweinchen 3 und 5 ccm intraperitoneal. Die Tiere kränkelten, blieben aber am Leben und erholten sich vollständig.

Ebenso erhielten zwei weiße Mäuse je 2 ccm. Die eine Maus war in den nächsten Tagen krank, erholte sich aber dann wieder. Die zweite Maus starb nach 48 Stunden. Im Herzblut waren keine Bakterien nachweisbar.

Zwei erwachsene Meerschweinchen erhielten intraperitoneal 5 und 10 ccm Filtrat aus einer 8tägigen Bouillonkultur eines dritten Parakolistammes (P. 3). Das mit 5 ccm behandelte Tier war am anderen Tage krank, erholte sich aber wieder; während das mit 10 ccm behandelte nach 36 Stunden starb. Befund: leichte serofibrinöse Peritonitis, mäßiger Milztumor.

Ein Kaninchen (2500 g) erhielt intravenös 2 ccm Filtrat aus drei Wochen alter Bouillonkultur des Stammes P. 3. Das Kaninchen starb am 4. Tage. Außer starker

Abmagerung waren wesentliche Veränderungen nicht vorhanden. Ein zweites Kaninchen (2100 g) erhielt intravenös 2 ccm desselben Filtrates, nachdem das Filtrat zuvor eine Stunde lang auf 80° C erhitzt worden war. Das Tier starb innerhalb 24 Stunden unter zunehmenden Lähmungserscheinungen. Sektionsergebnis negativ.

Zwei weiße Mäuse erhielten subkutan je 1 ccm desselben Filtrates, das zuvor zwei Minuten lang gekocht worden war. Beide Mäuse starben innerhalb 48 Stunden.

IV. Versuche mit Pseudokolibazillen.

Zwei erwachsene Meerschweinchen erhielten intraperitoneal je 10 ccm Filtrat aus einer 10 Tage alten Bouillonkultur eines Pseudokolistammes. Beide Tiere blieben gesund; desgl. zwei weiße Mäuse mit je 2 ccm intraperitoneal.

Auch in dem Filtrate aus einer 14tägigen Bouillonkultur eines zweiten Pseudokolistammes konnten bei derselben Versuchsweise giftige Substanzen nicht nachgewiesen werden.

V. Versuche mit Kolibazillen.

In Filtraten aus 1—12 Tage alten Bouillonkulturen von Kolibazillen vom Kalb, Schwein und Pferd konnten durch Verimpfung an Meerschweinchen und Mäuse giftige Stoffe nicht festgestellt werden.

Aus vorstehenden Versuchen ergibt sich, daß in Bouillonkulturen von Bakterien, die aus Kälberruhrkadavern isoliert worden waren, in ihren Merkmalen teils mit den Paratyphus-B-Bazillen, teils mit den Gärtnerbazillen übereinstimmten und z. T. zu den von uns als Parakolibazillen bezeichneten Bakterien gehörten, giftige Stoffe sich anhäufen können, die gegen Erhitzen ziemlich resistent sind. Sicherlich spielen diese Substanzen in der Pathogenese der Kälberruhr eine erhebliche Rolle.

Es mag dahingestellt bleiben, ob es sich hier um Toxine oder Endotoxine, also um Sekretions- oder Zerfallsprodukte der Bakterien handelt. Jedenfalls können diese Stoffe bisher noch nicht als Differenzierungskriterien der einschlägigen Bakterienarten herangezogen werden. Durch unsere weiteren Versuche wollen wir die Frage zu klären versuchen, ob man diese Substanzen zum Ausgangspunkte vorbeugender oder heilender Maßnahmen machen kann.

7. Bemerkungen über die Pathogenese der Kälberruhr und die Beziehungen der Kälberruhrbakterien zu den Fleischvergiftern.

Aus unseren Untersuchungen müssen wir schließen, daß das Krankheitsbild der Kälberruhr durch gewisse Varietäten der Koli-Typhusgruppe hervorgerufen werden kann. Wir können der Ansicht von Jensen nicht zustimmen, daß unter der Einwirkung akzidenteller Faktoren, wie Erkältung, Diätfehler, ausschließlicher Ernährung mit gekochter Milch u. a. das normale Darmkolibakterium derart pathogen wird, daß es die Veranlassung seuchenhafter Kälberruhr sein könnte. Wir sind vielmehr der Ansicht, daß die Kälberruhrbakterien trotz ihrer starken Verbreitung nicht zu der normalen Flora des Rinderdarmkanals gehören. Die Geschichte der Differenzierung

der Bakterien der Koli-Typhusgruppe hat gelehrt, daß die bisherigen bakteriologischen Methoden nicht ausreichen, die einzelnen Varietäten bestimmt zu klassifizieren. So hat Ostertag z. B. darauf hingewiesen, daß es nicht zulässig ist, alle Bakterien verschiedener Herkunft, die sich von den menschlichen Paratyphus-B-Bazillen bisher nicht differenzieren lassen, mit letzteren für identisch zu erklären, da hiergegen die epidemiologischen Tatsachen eine zu beredte Sprache führen. Fleisch von Schweinen, die wegen Schweinepest notgeschlachtet wurden, hat nachweislich noch niemals eine Paratyphusinfektion beim Menschen bedingt, ebensowenig wie Schweinefütterer in Schweinepestbeständen sich infiziert haben. Auch die Kälberruhrbakterien scheinen für Menschen in der Regel nicht pathogen zu sein, da sich sonst das Stallpersonal in Ställen, in denen Kälberruhr herrscht, recht häufig infizieren müßte, was aber nicht der Fall ist.

Das, was für die Paratyphus-B-Gruppe zutrifft, scheint auch für die Gärtnergruppe Gültigkeit zu haben.

Bei der Beurteilung der Frage, ob eine Fleischvergiftung vorliegt, muß daher mit viel größerer Sorgfalt vorgegangen werden, als dies bisher in vielen Fällen geschehen ist.

Was die Frage der Identität der Kälberruhrkolibakterien und der gewöhnlichen Kolibakterien anbelangt, so sprechen die epidemiologischen Tatsachen gegen eine solche. Namentlich spricht hiergegen das Auftreten von Ruhrenzootien in gewissen Beständen, während andere Bestände bei gleicher Haltung der Kälber verschont bleiben. Sicher können aber auch zum Tode führende, sporadisch auftretende Durchfälle bei Saugkälbern eine Folge primärer Verdauungsstörungen, verursacht durch Diätfehler, sein, und diese können fernerhin für die Ansiedelung von Ruhrbakterien prädisponierende Momente abgeben.

Neben den eigentlichen Kälberruhrbakterien spielen die Parakoli- und Gärtnerbazillen eine wesentliche Rolle, die bisher wegen mangelhafter Untersuchungsmethoden unterschätzt wurde. Die beiden letzteren Bakterienarten müssen als die gefährlicheren Erreger angesehen werden, die auch noch nach den ersten Lebenstagen der Kälber, also auch bei älteren Tieren, schwere Krankheitserscheinungen und den Tod hervorrufen können.

Der Nabelinfektion kommt nach unserem Ermessen in der Genese der Kälberruhr nur eine untergeordnete Bedeutung zu.

Eine intrauterine Infektion ist noch nicht nachgewiesen und könnte wohl nur für vereinzelte Ausnahmefälle in Betracht kommen.

Die extrauterine Infektion auf dem Verdauungswege ist unter natürlichen Verhältnissen die Regel. Die so eingeführten pathogenen Bakterien finden in dem fast keimfreien Säuglingsdarme keinen ihre Vermehrung hemmenden Antagonismus. Sie erzeugen wahrscheinlich Toxine, die in den Körperkreislauf übertreten und die schweren Erscheinungen auslösen. Oft tritt der Tod schon nach einigen Stunden infolge von Herzlähmung ein; nicht selten verstreichen bis zu dem letalen Ausgange 1—3 Krankheitstage.

Das gesamte Krankheitsbild läßt sich nur unter der Annahme einer schweren Intoxikation erklären.

Die Bakterien scheinen erst dann in den Lymph- und Blutstrom überzutreten, wenn die Darmschleimhaut bereits erheblich geschädigt ist, namentlich aber in der Agonie. Es ist deshalb vom wirtschaftlichen Standpunkte aus zweckmäßig, ruhrkranke Kälber, die noch nicht acht Tage alt sind, beim Auftreten der ersten erheblichen Krankheitssymptome zu schlachten, zumal in solchen Fällen die Genesung eine Ausnahme ist.

Schlüsse aus den ätiologischen Untersuchungen über die Kälberruhr.

1. Von 210 aus zahlreichen verschiedenen Kälberruhrenzootien isolierten, uns übersandten Bakterienstämmen erwiesen sich 160 Stämme als Bacterium coli commune, 24 Stämme als B. enteritidis Gärtner, 16 Stämme als Pseudokolibazillen, 4 Stämme als Parakolibazillen und je 2 Stämme als B. paratyphosus B, als B. lactis aërogenes und als B. proteus mirabilis.

2. Von den Gärtnerbazillen und den Bazillen, die zu der Paratyphus-B-Gruppe gehören, läßt sich eine dritte Bazillenart durch Agglutination deutlich unterscheiden, während alle drei Varietäten im übrigen Verhalten völlig übereinstimmen. Für diese dritte Bakterienart schlagen wir die Bezeichnung „Parakolibazillen" vor.

3. Es ist anzunehmen, daß sich unter den drei Hauptgruppen der Paratyphus-B-, der Gärtner- und der Parakolibazillen distinkte Varietäten finden, die sich durch ein für verschiedene Tierarten verschiedenes Pathogenitätsvermögen voneinander unterscheiden. Außerdem ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß es zwischen diesen verschiedenen Gruppen Übergangsstämme gibt.

4. Gärtnerbazillen, Parakoli- und Paratyphus-B-Bazillen aus Kälberruhrkadavern bilden, allerdings nicht regelmäßig, in Bouillonkulturen Toxine, die gegen Erhitzen ziemlich widerstandsfähig sind.

5. Die Kälberruhr stellt, wie bekannt, keine ätiologische Einheit dar. Nach unsern Untersuchungen vermögen die Ruhrkolibazillen und Pseudokolibazillen, die Gärtner- und Parakoli- und in selteneren Fällen auch die Paratyphus-B-Bazillen das Krankheitsbild der Kälberruhr zu erzeugen.

6. Obwohl wir mit unsern heutigen bakteriologischen Differenzierungsmethoden die Ruhrkolibazillen nicht von den gewöhnlichen Kolibazillen unterscheiden können, so dürften sie, wenn ihnen eine erhebliche Bedeutung in der Ätiologie der Kälberruhr tatsächlich zukommt, wohl kaum als durch äußere Faktoren (Erkältung, Diätfehler) pathogen gewordene normale Darmkolibakterien anzusehen sein; vielmehr würden dann epidemiologische Tatsachen dafür sprechen, daß wir es mit einer selbständigen Varietät der Kolibakterien zu tun haben.

7. Die Gärtnerbazillen und Parakolibazillen rufen experimentell bei Milchkälbern die heftigsten Erkrankungen unter dem klinischen Bilde der Ruhr hervor. Enzootien, bei denen diese Erreger in großen Mengen aus dem Darme und den inneren Organen von schwerkranken und verendeten Kälbern isoliert werden können, sind durchaus nicht selten. Es gibt Gegenden, in denen derartige Ruhrenzootien vorherrschen.

8. Vielleicht kann auch die Schweinepest hin und wieder durch die Ausstreuung des Bacillus suipestifer eine Entstehungsursache der Kälberruhr abgeben.

9. In dem Darme von älteren Kälbern, die nur leicht an Ruhr gelitten haben und völlig genesen sind, sowie in dem Darm anscheinend gesunder Tiere anderer Arten (Pferd, Hund, Geflügel) können sich längere Zeit hindurch Bakterien, die Kälberruhr erzeugen, finden und mit dem Kote ausgestreut werden.

10. Neben den Gärtnerbazillen können sich in den Organen ein und desselben Ruhrkalbes gleichzeitig Parakoli- oder Paratyphus-B-Bazillen finden.

11. Mit dem Kot und in zweiter Linie auch mit dem Harne werden von den kranken Kälbern die betreffenden Bakterien in großer Menge ausgeschieden, so daß sich andere in demselben Stalle befindliche Kälber leicht infizieren können.

12. Bei den durch genannte Bakterien, namentlich auch durch Gärtner- und Parakolibazillen hervorgerufenen Kälberruhrfällen, bei denen sich die pathogenen Bakterien in allen Organen und selbst in der Muskulatur finden, können die anatomischen Veränderungen, die einen Schluß auf das Bestehen einer septikämischen Erkrankung zulassen, nur geringfügig sein.

13. Das Vorkommen einer intrauterinen Infektion ist nicht bewiesen.

Die Infektion erfolgt extrauterin und in überwiegender Mehrzahl wohl durch Aufnahme der Ruhrerreger mit der Nahrung. Die Bedeutung der Nabelinfektion ist noch durch Versuche klarzulegen.

14. Die große Empfänglichkeit neugeborener Kälber für die genannten Bakterien der Koli-Typhusgruppe kann durch die größere Vulnerabilität des Darmes erklärt werden. Vielleicht kommt auch mit in Betracht die Keimfreiheit des Darmkanals des Neugeborenen und somit das Fehlen von Antagonisten.

15. Die Erreger der menschlichen Dysenterie haben wir in Kälberruhrenzootien nicht nachweisen können.

16. Es ist bisher nicht erwiesen, daß der B. lactis aërogenes, der B. pyocyaneus, der B. proteus und die verschiedenen Kokkenarten in der Ätiologie der Kälberruhr eine wesentliche Rolle spielen.

II. Zur Frage der Bekämpfung der Kälberruhr.

1. Die Verbreitung der Kälberruhrbakterien und ihre Haltbarkeit außerhalb des Tierkörpers.

Wir wissen, daß die für die Ätiologie der Kälberruhr in Betracht kommenden Bakterien der Koli-Typhusgruppe außerordentlich weit verbreitet sind. So können sie z. B. unter Mäusen und Ratten Seuchen hervorrufen und auf diese Weise ausgestreut werden. Uhlenhuth und Grabert haben nachgewiesen, daß sich Bakterien, die von Paratyphus-B-Bazillen nicht zu unterscheiden sind, im Darmkanale von etwa 6—8 % der gesunden Schweine vorfinden. Es soll noch einmal betont werden, daß es mit allen unseren heutigen bakteriologischen Differenzierungsmethoden nicht möglich ist, den „Schweinepestbazillus“, den Mäusetyphusbazillus und den von Nocard entdeckten Bazillus der Psittakose von den menschlichen Paratyphus-B-Bazillen zu

unterscheiden; ebensowenig wie sich nach den Untersuchungen von Trautmann und Xylander der Ratinbazillus von dem Bacillus enteritidis Gärtner differenzieren läßt. Trotzdem kann es aber nicht ohne weiteres als zulässig erachtet werden, hieraus auf eine Identität aller dieser Bazillen zu schließen.

Um die Frage zu beantworten, ob im Darmkanale gesunder Tiere die hier in Betracht kommenden Arten von Typhaceen vorkommen, untersuchten wir auf das genaueste den Kot von 50 erwachsenen gesunden Rindern aus verschiedenen Beständen, von 60 (4—6 Wochen alten) gesunden Kälbern des Berliner Viehhofes, von 20 verschiedenen Besitzern gehörenden Pferden, von 15 Schafen, 3 Ziegen, 16 Hunden, 6 Gänsen, 14 Tauben, 14 Sperlingen, 25 Kaninchen und 50 Meerschweinchen. Dabei fanden sich neben Koli-, Milchsäure-, milchpeptonisierenden Bakterien, Heubazillen, Kokken und vereinzelten Funden von Bac. faecalis alcaligenes je einmal beim Pferde, beim Kaninchen, bei der Taube und beim Sperling Bakterien, die in allen Merkmalen, auch in der Agglutination mit den bei der Kälberruhr gefundenen Parakolibazillen übereinstimmten.

Daß auch andere Tierarten sich in natürlicher Weise mit den zur Gruppe der Kälberruhrbakterien gehörigen Mikroorganismen infizieren und somit zur Keimverschleppung beitragen können, dafür mag folgender Fall als Beweis dienen:

Ein sieben Monate alter, zu keinem Versuche benutzter Hund aus den Beständen des Kaiserl. Gesundheitsamtes erkrankte Anfang Juni 1908 spontan an Durchfall. Das gut genährte Tier war dabei die ersten zwei Tage munter und hatte regen Appetit. Mastdarmtemperatur 39,5°. Am dritten Krankheitstage wurde der Durchfall stärker, und das Allgemeinbefinden verschlechterte sich. Der Hund war matt und stand nur ungern auf. Seine Nase war trocken, die Maulschleimhaut weiß und mit einem pappigen Belage bedeckt, das Haarkleid trocken und gesträubt. Hinterbeine, After und Schwanz waren mit dünnbreiigen, braun- bis zitronengelben, übelriechenden Fäces beschmutzt. Aus den Fäces isolierten wir einen Bazillus, der vom Bac. paratyphosus B weder kulturell noch durch Agglutination zu unterscheiden war. Dem Hunde war Gelegenheit gegeben, sich spontan mit dem Bacillus suipestifer zu infizieren, da gleichzeitig im Kaiserl. Gesundheitsamte umfangreiche Untersuchungen über Schweinepest im Gange waren. Der Hund mußte am vierten Krankheitstage wegen leichter Akarusräude getötet werden, um einer Verschleppung der Krankheit auf andere Versuchshunde vorzubeugen. Obduktionsbefund: Im freien Raume der Bauchhöhle fanden sich ca. 10 ccm einer serösen, gelblich-klaren Flüssigkeit. Das Bauchfell war glatt und glänzend. Lage der Darmteile normal. Gefäße des Magens und Darmkanals stark mit Blut gefüllt. Der Magen enthielt eine geringe Menge flüssigen Inhalts. Die Schleimhaut der Pylorusdrüsenregion war leicht geschwollen und gerötet. Zwölffingerdarm- und übrige Dünndarmschleimhaut diffus und punktförmig gerötet und geschwollen. Dünnflüssiger, fade riechender, braungelblicher Dünndarminhalt. Dickdarm- und Mastdarmschleimhaut wenig gerötet; halbflüssiger, übelriechender, graugelber Inhalt. Die Mesenterialdrüsen waren markig geschwollen. Die Milz war sehr blutreich, dunkelbraunrot, Kapsel stark gespannt, Ränder abgerundet. Die Nieren waren ebenfalls sehr blutreich. Die Leber war von bräunlich-gelber Farbe.

Die zugehörigen Lymphdrüsen waren markig geschwollen. An den Lungen waren keine Veränderungen vorhanden. Die Gefäße am Herzen waren stark mit Blut gefüllt; der Herzmuskel war graurot gefärbt. Das Herzblut war 1 Stunde nach der Tötung nur unvollkommen geronnen. Außer im ganzen Darmkanal fanden wir den Bacillus paratyphosus B in geringer Zahl noch in der Galle. Die aus dem Herzblute, den inneren Organen, dem Muskelfleisch und dem Knochenmark angelegten Kulturen blieben steril.

Weiterhin gingen wir der Frage nach, ob sich in der Berliner Handelsmilch die hier in Betracht kommenden Bakterien fänden. Die Untersuchung von 20 Proben, die von verschiedenen Händlern bezogen wurden, ergab in keinem Falle das Vorhandensein von Bakterien, die zur Paratyphusgruppe gehören. Die Untersuchung von 25 Milchproben, die den gesunden Eutern von drei Jahre alten Kühen auf drei Gütern in Mecklenburg von uns unter aseptischen Kautelen entnommen waren, lieferte bezüglich des Vorkommens von Gärtner-, Parakoli- und Paratyphusbazillen nur negative Ergebnisse.

Anders kann es jedoch sein, wenn die Milch in Ställen, in denen Kälberruhr herrscht, in der gewöhnlichen Weise ermolken wird. Hier können leicht Typhaceen mit Kotteilchen während oder nach dem Melken in die Milch gelangen. In einem derartigen Falle haben wir Parakolibazillen in der Milch nachgewiesen. Durch die Untersuchung der Euter von den Kühen, die diese Milch geliefert hatten, konnten wir das Vorhandensein einer Euterentzündung bei dem einen oder anderen Tiere ausschließen.

Hinsichtlich der Verbreitung der Kälberruhrbakterien haben wir demnach gefunden, daß sie sich bei den verschiedensten Tierarten finden können, ja daß sie sich finden können bei Tieren, die nicht die geringsten Krankheitserscheinungen zeigen. Bezüglich der Einschleppung von Kälberruhr ist dieser Umstand zur Erklärung mit in Erwägung zu ziehen.

Außerhalb des Tierkörpers vermögen sich alle Glieder der Typhaceen sehr lange lebensfähig zu halten. So konnten wir im Rinderkote, der mit Gärtner- und Parakolibazillen durchsetzt war, noch 10 und 11 Monate nach der Entleerung des Kotes die betreffenden Bakterien nachweisen. Wahrscheinlich vermögen sich diese Bakterien noch bedeutend länger außerhalb des Tierkörpers zu halten.

2. Die allgemeinen hygienischen Maßnahme zur Bekämpfung der Kälberruhr.

Schon lange bevor die Ätiologie der Kälberruhr experimentell geklärt war, waren die Tierärzte aus ihren Beobachtungen zu der Anschauung gekommen, daß es sich für die seuchenhaft auftretende Ruhr um einen bestimmten Infektionsstoff handeln müsse, da allgemein kausale Momente, wie Erkältung und Diätfehler, allein zur Erklärung der Enzootien nicht ausreichten. Ferner hatte man bereits beobachtet, daß sich der Infektionsstoff nur sehr schwer in einem Stalle vernichten läßt, da sich die Kälberruhr nicht selten 2—3 Jahre lang und selbst länger als Seuche in einem Bestande hält, obwohl in demselben mitunter sechs Monate lang kein Kalb geboren wird. Da wir jetzt wissen, daß die Kälberruhr keine ätiologische Einheit vorstellt, und daß für sie die bei kranken und selbst gesunden Tieren nicht selten vorkommenden

Varietäten der Kolityphusgruppe als Ursache in Betracht kommen, so haben wir einen Einblick in die zahlreichen Infektionsmöglichkeiten der neugeborenen Kälber und hiermit auch bestimmte Hinweise auf die zweckmäßigste Art der Vorbeuge gewonnen. Aus dem Umstande, daß Tiere ohne Krankheitserscheinungen noch Kälberruhrbakterien mit dem Kote ausscheiden können, erklärt sich die nicht selten festgestellte Tatsache, daß die Seuche trotz wiederholter Stalldesinfektion nicht getilgt wurde. Es fanden sich bei Fall II (S. 528) im Kote des Kalbes die zur Paratyphus-B-Gruppe gehörenden Bakterien noch 14 Tage nach der völligen Wiederherstellung. Im Fall III (S. 528) konnten wir noch Gärtnerbazillen im Kote eines Kalbes nachweisen, nachdem seit Aufhören der leichteren Krankheitserscheinungen mindestens 4 Wochen verstrichen waren. Weiterhin können Ratten und Mäuse bei der Konservierung der Ansteckungsstoffe eine Rolle spielen. Ferner ist es meistens kaum möglich, einen großen Kuhstall (Tiefstall) zu desinfizieren wenigstens so, daß pathogene Keime, die sich sogar im eingetrockneten Kot monatelang lebensfähig halten können, mit Sicherheit zerstört werden.

Unter diesen Verhältnissen ist der Vorschlag von Evers, die neugeborenen Kälber in einem Kasten aufzuziehen, als ein glücklicher Gedanke anzusehen. Die Aufzucht der Kälber in einem leicht desinfizierbaren Kasten schützt die Tiere zunächst möglichst vor einer Infektion.

Stellt sich aber trotz dieser Maßnahmen noch Ruhr ein, so wird wenigstens verhindert, daß die Kälberruhrbakterien im Stalle ausgestreut werden.

Evers macht über seine Kästen und die Erfolge seines Verfahrens folgende Angaben:

„Jeder Kasten ist 1 m hoch, 40 cm breit und $1^1/_2$ m lang. Der Fußboden und die Wände bestehen aus gut gehobelten Brettern, die mit einer bleifreien Ölfarbe gestrichen sind. Die Wände und besonders der Boden dürfen keine Risse zeigen. Während die hintere Wand nur aus einem etwa 1—2 cm von der Bodenfläche entfernt endenden Schieber besteht, wird die andere Wand aus zwei je 50 cm hohen Schiebern gebildet, von denen der untere bis auf den Boden reicht. Die Schieber laufen nicht in einem Falz, sondern werden hinten durch vier, vorn durch acht eiserne Winkel gehalten.

Der Kasten muß hinten etwas niedriger gestellt werden, damit der Harn leicht durch Vermittelung einer Rinne in das am hinteren, unteren Ende angebrachte Gefäß fließen kann. Beide Seitenwände werden am oberen Rande durch zwei Eisenstäbe fest miteinander verbunden. Am oberen Schieber befindet sich ein Handgriff, vermittels dessen er leicht hoch gehoben werden kann, ohne die innere Wandfläche mit vielleicht unreinen Händen berühren zu müssen. Der Boden des Kastens wird am besten mit Torfmehl bestreut, doch können auch trockene Sägespäne, Spreu usw. verwendet werden. Zur Desinfektion des infektiösen Harns wird in dem am hinteren Ende des Kastens angebrachten Gefäß dauernd eine stark desinfizierende Flüssigkeit gehalten. Zum Zwecke des leichten Transportes des Kastens sind an seinen beiden Außenwänden je zwei Ringe oder Winkel, durch die geeignete Stangen zum Tragen geschoben werden können, angebracht. Sofort nach der Geburt wird das Kalb in einen solchen Kasten gebracht, der zuvor gründlich desinfiziert wurde, und mindestens vier Tage lang in dem Kasten belassen."

Die Vorzüge dieser Kästen sind folgende:

1. Der Kasten kann jederzeit leicht und gründlich gereinigt und desinfiziert werden.

2. Der Harn fließt, soweit er nicht vom Streumaterial aufgesogen wird, in ein Gefäß und wird hier unschädlich gemacht. So gelangt der Harn nicht in den Stall.

Die geringe Kotmenge kann im Kasten verbleiben, sie wird bei täglicher frischer Einstreu das Tier nicht belästigen.

3. Das Kalb kann, wenn es sich nicht schon bei der Geburt infiziert hat, nicht mehr mit Kälberruhr angesteckt werden. Wenn aber das Kalb etwa schon infiziert in den Kasten kommt, dann kann wenigstens der Ansteckungsstoff nicht in den Stall gelangen oder auf andere neugeborene Kälber übertragen werden. Beim etwaigen Tode eines im Kasten befindlichen Kalbes wird der Kasten besonders gut gereinigt und der Kadaver unschädlich beseitigt.

4. Das Kalb braucht nicht mit einem undesinfizierbaren Strick im Stalle angebunden zu werden.

Wenn die Kästen (auf einem größeren Gute müssen immer 4 bis 6 Kästen vorhanden sein) nicht im Gebrauch sind, werden sie zweckmäßig im Freien aufgestellt, damit Licht, Luft, Frost usw. ihre desinfizierenden Wirkungen ausüben können. In jedem Jahre werden die Kästen, wenn ihr Anstrich durch wiederholte Reinigung oder durch Witterungseinflüsse gelitten hat, neu angestrichen, wobei etwa entstandene Risse zu verkitten sind. Evers führt an, er habe die prophylaktische Behandlung der Kälberruhr mit Hilfe der von ihm konstruierten Kästen im Winter 1907/08 auf elf großen Gütern durchgeführt und in allen Ställen damit einen ausgezeichneten Erfolg gehabt. Auf den Versuchsgütern sei früher Serum- und Nabelbehandlung in Anwendung gekommen, habe aber in der kritischen Zeit versagt. Sobald die Kastenbehandlung der Kälber begann, sei weder Serum noch Nabelverband angewendet, sondern der Nabel nur einmal mit 15%igem Bazillolglyzerin und zwar möglichst bald nach der Geburt bepinselt worden.

Die Erfolge der symptomatischen Therapie bei Tieren, die die erste Lebenswoche noch nicht überschritten haben, müssen als sehr zweifelhaft bezeichnet werden. Aber auch bei älteren Milchkälbern kann die Sterblichkeitsziffer durch die Verabreichung der bekannten Medikamente, wodurch der mit der Kälberruhr verbundene erschöpfende Durchfall bekämpft werden soll, nicht wesentlich herabgedrückt werden.

Die Heilimpfung kranker Tiere mit Serum, das mit Hilfe von „Kälberruhrbakterien“ hergestellt wurde, hat bei Kälberruhr bisher keine sicheren Erfolge zu verzeichnen. Über den Wert der Schutzimpfung in der Praxis geht aus den Berichten der Kreistierärzte Preußens hervor, daß durch Anwendung von Kälberruhrschutzserum in manchen Beständen, in denen die Kälberruhr enzootisch und bösartig geherrscht hat, die Krankeit zum Erlöschen gebracht wurde; in anderen Beständen wurde die Sterblichkeit nur herabgesetzt, und in wieder anderen Beständen übte das Serum überhaupt keine schützende Wirkung aus. Die Ergebnisse unserer ätiologischen Forschungen vermögen eine Erklärung dafür zu geben, daß die bisherige Methode der Schutzimpfung gegen Kälberruhr einen durchgreifenden Nutzen nicht bot. Bei der Verschiedenheit der Bakterien, die das Krankheitsbild der Kälberruhr erzeugen können, scheint uns die Herstellung von polyvalenten Seren nicht glücklich. Monovalente, möglichst hochwertige Sera würden hier, wie auch schon von anderer Seite vorgeschlagen wurde, unseres Erachtens viel angezeigter sein. Es müßte aber dann bei jeder Kälberruhrenzootie selbstverständlich zunächst ermittelt werden, auf welchen Erreger sie

zurückzuführen ist. Wir werden bei unseren weiteren Versuchen Untersuchungen anstellen über den prophylaktischen und therapeutischen Wert von hochwertigen antitoxischen Seren. Sicher sind die Hoffnungen auf eine brauchbare Schutzimpfung bei der Kälberruhr nur gering.

Bis zur vollen Klärung des Problems der bakteriellen Behandlung und Vorbeuge können allgemein nur die hygienischen Maßnahmen empfohlen werden, die den Schutz der neugeborenen Kälber vor der Infektion bezwecken. Diese Maßnahmen würden wir auf Grund unserer Untersuchungen in Verbindung mit den in der Literatur niedergelegten Feststellungen von Poels u. Joest wie folgt zusammenfassen:

1. Kurz vor der Geburt gründliches Reinigen der Scham, des Afters und des Schwanzes der Kuh mit den bekannten Desinfektionsmitteln in den üblichen Verdünnungen (2—3%). (Kreolin, Lysol, Bazillol usw.).

2. Man lasse die Kuh möglichst allein abkalben, ohne den Arm oder Instrumente in die Scheide einzuführen. Wird dieses bei Schwierigkeiten der Geburt notwendig, so müssen Hand und Arm vorher gründlich desinfiziert werden. Die zu verwendenden Instrumente und Stricke sind auszukochen. Man hat also bei der Geburtshilfe alle Regeln der Antisepsis und Asepsis auf das genaueste zu beachten und den Stand der gebärenden Kuh vorher bezüglich der Sauberkeit so herzurichten, daß die Anwendung dieser Regeln tunlichst ermöglicht wird.

3. Das Kalb wird auf trockener Unterlage aufgefangen mit dem Rücken nach unten, und sofort eine sachgemäße Nabelbehandlung eingeleitet. Ein Nabelverband ist bei der von Evers angegebenen Kastenaufzucht (s. u. 4) überflüssig, sonst aber wohl von Nutzen.

4. Das Kalb wird am besten sofort nach der Geburt in der von Evers angegebenen Weise in einen gründlich desinfizierten und leicht zu reinigenden Kasten gebracht und in diesem Kasten 4—5 Tage belassen.

5. Nach dem Verbringen in den Kasten erhält das Kalb sofort $^1/_4$ l kuhwarme, aseptisch in ausgekochte Flasche ermolkene Mutter-Milch (Kolostralmilch), um die Bildung von Magen- und Darmsäften anzuregen und so den Darm widerstandsfähiger gegen eine bakterielle Infektion zu machen.

Diese Maßnahmen sind etwas kompliziert. Sie lassen sich aber, wie die Erfahrung lehrt, in einigermaßen gut geleiteten Betrieben nach tierärztlicher Anleitung ohne übergroße Schwierigkeiten durchführen. Der durch die Maßnahmen zu erhoffende Erfolg läßt ihre Anwendung überall dort angezeigt erscheinen, wo einfachere Mittel zur Bekämpfung der Kälberruhr versagt haben.

Abgeschlossen im Februar 1909.

Literatur.

1. Babès, Über die Morphologie, die Biologie und die Differentialdiagnose der Gruppe des Typhusbazillus. Bericht über den 14. internat. Kongreß f. Hygiene. Berlin, 1908, Bd. II, S. 59.

2. Bjelaeff, Über einige biochemische Eigenschaften der Kolibazillengruppe. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt., Referate 1903, Bd. 33, S. 513.

3. Bock, Untersuchungen über Bakterien aus der Paratyphusgruppe. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1906, Bd. 24, S. 238.

4. Böhme, Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakt. Zwecke. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale. 1906, Bd. 40, S. 129.

5. Buchholz, Zur kulturellen Unterscheidung der Typhus-Paratyphus-Kolibakterien untereinander. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 1907, Bd. 56, S. 220.

6. Brion und Kayser, Über eine Erkrankung mit dem Befunde eines typhusähnlichen Stäbchens im Blute. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 15, S. 611.

7. Bugge, Die Kälberruhr und ihre Behandlung. Berl. tierärztliche Wochenschr. 1906, S. 134.

8. Cadéac, Sur l'étiologie des enterites des nouveau-nés et du veau en particulier. Journ. de méd. vét. et de zootechnie. Novemb. 07.

9. v. Drigalski-Conradi, Über ein Verfahren zum Nachweise der Typhusbazillen. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 1902, Bd. 39, S. 283.

10. Endo, Über ein Verfahren zum Nachweise der Typhusbazillen. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 1904, Bd. 35, S. 109.

11. van Ermengen, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. Kolle-Wassermann, Die pathogenen Mikroorganismen. Bd. 2, S. 637.

12. Fally, La diarrhée epizootique des veaux et les intoxications carnées. Rev. gén. de méd. vét. 1908. t. XI, p. 575.

13. Fröhner, Die Ruhr der Säuglinge. Lehrbuch der spez. Pathologie und Therapie der Haustiere. 1903, Bd. 2, S. 249.

14. Gaethgens, Über die Bedeutung des Vorkommens der Paratyphusbazillen. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1907, Bd. 25, S. 203.

15. Gärtner, Korrespondenzblatt des allgem. ärztlichen Vereins von Thüringen 1888, Nr. 9.

16. Grabert, Beitrag zur Biologie des Erregers der Schweinepest. Inaug.-Dissert. Gießen 1904.

17. Derselbe, Zur Herkunft des Bac. suipestifer. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten usw. der Haustiere. 1907, Bd. 3, S. 218.

19. Hutyra u. Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. 1905, I. Bd., S. 370.

19. Jensen, Kälberruhr, Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1903, Bd. III, S. 761.

20. Derselbe, Über Kälberruhr und deren Ätiologie. Monatsheft für prakt. Tierheilkunde, 1892, Bd. 4, S. 97.

21. Derselbe, Über Kälberruhr und deren Verhütung durch Seruminjektion. Zeitschr. f. Tiermedizin, Bd. IX, Heft 5 u. 6, S. 321.

22. Derselbe, Bact. coli commune als Krankheitserreger bei Tieren. Ergebnisse der allgem. Pathologie und patholog. Anatomie von Lubarsch u. Ostertag, 1897, IV. Jahrgang.

23. Joest, Untersuchungen über Kälberruhr. Zeitschr. f. Tiermedizin 1903, Bd. VII, S. 377.

24. Kayser, Über den Typus A des Bacterium paratyphi usw. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 49, S. 1803.

25. Klinger, Über eine neue Methode zum Nachweis des Typhusbazillus in den Darmentleerungen. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1906, Bd. 24, S. 35.

26. Kutscher u. Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 1906, Bd. 52, S. 301.

27. Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbakterien Münchener med. Wochenschr. 1903, Nr. 49, S. 2139.

28. Lesage et Delmer, Contribution à l'étude de la diarrhée des jeunes veaux. Ann de l'instit. Pasteur 1901, S. 417.

29. Löffler, 14. intern. Kongreß f. Hygiene und Demographie. Berlin 1907.

30. Derselbe, Zum Nachweis und zur Differentialdiagnose des Typhusbazillus mittels des Malachitgrün. Deutsche med. Wochenschr. 1907, S. 1581.

31. Mazzanti u. Vigezzi, La diarrhea bianca dei vitelli neonati dell'agro parmense Parma 1895. Ref. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt., Bd. 18, S. 653.

32. Monti e Veratti, Giorn. di med. vet. prat. 1895. Ref. ebenda.

33. de Nobele, Annales de la soc. méd. Gand 1899.

34. Nocard, Une nouvelle pasteurellose la white scour et la lung disease des veaux en Irlande. Bull. de la soc. centr. de méd. vét. 1901, p. 231 A 396.

35. Oldekop, Eine Modifikation des Rothberg-Scheffierschen Neutralrotnährbodens. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 35, 1904, S. 120.

36. Ostertag, Handbuch der Fleischbeschau, 1904, 5. Aufl., S. 501.

36a. Derselbe, Zeitschr. f, Fleisch- u. Milchhygiene. Dezember 1908.

37. Pfeiffer, Kälberruhr. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906, S. 769.

38. Piana, La moria dei vitelli. Lettera al Prof. Vacchetta. L'allevatore 1895, S. 977. Ref. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Ref. Bd. 18, S. 653.

39. Poels, Rapport over de Kalverziekte in Nederland. Gravenhagen 1899.

40. Poppe, Beiträge zur vergleichenden Biologie des Bacillus suipestifer und des Bacillus paratyphi B. Zeitschr. f. Infektion usw. der Haustiere 1908. 5. Bd., Heft 1 u. 2.

41. Riemer, Bericht über eine Fleischvergiftung. Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 6.

42. Schmitt, Zur Ätiologie des seuchenhaften Kälbersterbens. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1908, Nr. 97.

43. Schottmüller, Über eine das Bild des Typhus bietende Erkrankung, hervorgerufen durch typhusähnliche Stäbchen. Deutsche med. Wochenschr. 1900, S. 511.

44. Derselbe, Über mehrere das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle usw. (Paratyphus). Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten 1901, Bd. 36, S. 368.

45. Schütz, zitiert nach Fröhner, Spez. Path. u. Therapie der Haustiere, 1903, Bd. 2, S. 251.

46. Stazzi, La diarrhée des veaux. Rev. gén. de méd. vét. 1908. t. XI, p. 60.

47. Thomassen, Une nouvelle septicaemie des veaux. Ann. de l'instit. Pasteur 1897. p. 523.

48. Titze, Neueres über Fleischvergiftungen. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 1908, Heft 6.

49. Derselbe, Berliner tierärztl. Wochenschr. 1908, Nr. 26.

50. Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. 1908, Bd. 42, I. Abt. Referate.

51. Van der Velde, Zentralbl. f. Bakt. 1908.

52. Wassermann, Bacillus pyocyaneus in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen 1903, Bd. 3, S. 471.

53. Weichel, Das Vorkommen von Bakterien der Koli-Typhusgruppe bei der Kälberruhr. Inaug.-Diss. Bern 1908.

54. Zeller, Untersuchungen über 40 aus kranken Kälbern gezüchtete Stämme der Paratyphusgruppe. Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. der Haustiere 1909, Bd. 5, Heft 3 u. 4, S. 361—369.

Rattenflöhe aus Deutsch-Ostafrika.

Von

Prof. **Dr. A. Schuberg**, und **Dr. P. Manteufel**,
Regierungsrat im Kaiserl. Gesundheitsamte,
Oberarzt der Kaiserl. Schutztruppe, früherem wissensch. Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Nach den Untersuchungen der englischen Pest-Kommission darf es als endgültig erwiesen gelten, daß den Rattenflöhen eine sehr große Bedeutung für die Ausbreitung der Pest zukommt. Es ist experimentell festgestellt, daß die Pest von Ratte zu Ratte durch *Loemopsylla cheopis* Rothsch., *Pulex irritans* L., *Ceratophyllus fasciatus* Bosc. (Reports, 1906, I; 1907, XV) und *Ctenopsylla musculi* Dugès (Verjbitski, in: Reports, 1908, XXVI) übertragen werden kann. Anderseits wurde gezeigt, daß die für die Pestübertragung wichtigste Art von Rattenflöhen, *Loemopsylla cheopis*, auch am Menschen saugt, daß also auch eine Übertragung der Pest von der Ratte auf den Menschen durch diese Flohart möglich ist.

Mit Recht hat man daher neuerdings den auf den Ratten vorkommenden Flöhen eine größere Aufmerksamkeit gewidmet und ist insbesondere der Verbreitung von *Loemopsylla cheopis* auf den Ratten verschiedener Länder nachgegangen.

Es war somit auch von Interesse, eine Sendung von Rattenflöhen aus Daressalam, die dem Kaiserl. Gesundheitsamte im April dieses Jahres durch das Reichskolonialamt zur Bestimmung überwiesen wurde, untersuchen zu können. Die Pestgefahr für Deutsch Ostafrika beruht, abgesehen von einigen ständigen Pestherden im Innern, seit jeher hauptsächlich auf dem Schiffsverkehr mit Indien. Die Beantwortung der Frage, ob und in welcher Zahl vor allem *Loemopsylla cheopis* auf Ratten in der Kolonie gefunden wird, hat daher um so größeres praktisches Interesse, als diese Flohart nach den Untersuchungen der englichen Pestkommission in Indien für die Pestübertragung hauptsächlich in Frage kommt.

Bedauerlicherweise war der uns übergebenen Sendung eine Mitteilung, bei welchen Rattenarten die Flöhe gesammelt worden waren, nicht beigefügt; vermutlich dürfte es sich aber um *Mus rattus, decumanus* und *alexandrinus* handeln, die alle in Ostafrika vorkommen.

Die Sendung bestand aus 258 Exemplaren und enthielt nur drei verschiedene Arten von Flöhen:

Loemopsylla cheopis Rothsch.	172 (66,6 %)
Loemopsylla scopulifer Rothsch.	28 (10,9 %)
Sarcopsylla gallinacea Westw.	58 (22,5 %)

Daß *Loemopsylla cheopis* gefunden werden würde, war von vornherein mit einiger Wahrscheinlichkeit zu erwarten. Nach Jordan und Rothschild (1908, S 44) ist die Heimat dieser Art, die in allen warmen Klimaten vorkommen dürfte, wahrscheinlich das Niltal. Sie wurde von den genannten Autoren in Afrika für den ägyptischen Sudan, Meroe (Dongola), Praetoria (Transvaal), Beira (Portugiesisch Ostafrika), Entebbe (Uganda), Benguella (Angola) angegeben; Billet (1908, S. 114) stellte ihr Vorkommen in Algier, Conseil (1909, S. 324) in Tunis fest. Daß sie auch in Deutsch-Ostafrika vorkommen würde, war daher, wie gesagt, zu erwarten. Immerhin ist die Feststellung ihres Vorkommens von Interesse; sie ist, nach den vorliegenden Proben zu urteilen, mit 66,6% die bei weitem häufigste Art von Rattenflöhen in Daressalam.

Loemopsylla scopulifer Rothsch. wurde bisher von Jordan und Rothschild (1908, S. 53) für Südafrika (Umfolozi Station, Zululand) sowie für Portugiesisch-Ostafrika (Beira) angegeben, und zwar nach Funden an *Saccostomus campestris, Mus auricomis* und *Cricetomys gambianus*. Leider können wir nicht angeben, an welcher Rattenart der Floh in Daressalam gefunden wurde.

Sarcopsylla gallinacea Westw. (*Echidnophaga gallinacea* (Westw.) Rothsch.) ist aus Deutsch-Ostafrika von Hühnern (*Gallus domesticus*) und Enten (*Anas boschas* L.) bekannt geworden (Fülleborn, vgl. Tiraboschi, 1904, S. 305). An Ratten hat diese Spezies zuerst Tiraboschi in Italien angetroffen (1904, S. 305; 1907, S. 608); ob sie auch in Afrika schon an Ratten gefunden wurde, vermögen wir nicht anzugeben[1]). Recht auffällig ist der immerhin beträchtliche Prozentsatz (22,5%), in welchem dieser Geflügelfloh in unserem Material enthalten war, woraus wohl hervorgeht, daß er in Daressalam an Ratten nicht selten vorkommt.

Bemerkenswert ist ferner das völlige Fehlen anderer Arten, vor allem des europäischen Rattenflohs, *Ceratophyllus fasciatus* Bosc. und des Mäuseflohs, *Ctenopsylla musculi* Dugès. In Algier fand Billet (1908) *Ctenocephalus fasciatus* auf *Mus decumanus, rattus* und *alexandrinus* noch in 22,9%, *Ctenopsylla musculi* sogar in 36,9%, und Conseil (1909) zählte in Tunis auf den gleichen Ratten, ferner *Mus musculus* und „anderen" 5,1% *Ceratophyllus fasciatus* und 10,1% *Ctenopsylla musculi*.

Das häufige Vorkommen von *Loemopsylla cheopis* auf den Ratten in Daressalam zeigt, daß damit eine der wichtigsten Vorbedingungen für die Ausbreitung der Pest, vor allem von Ratte zu Ratte, gegeben ist.

Unbekannt ist, ob und in welchem Maße die nahestehende Art *Loemopsylla scopulifer* hierfür in Betracht kommt. In den Berichten der indischen Pestkommission ist von dieser Spezies, die bisher überhaupt nur in Afrika gefunden wurde (Jordan und Rothschild 1908, S. 53) nirgends die Rede. Ob sie den Menschen befällt, ist ebenfalls nicht bekannt. Angesichts ihres weniger häufigen Vorkommens ist wohl anzunehmen, daß ihr eine geringere und jedenfalls keine andersartige Bedeutung als *Loemopsylla cheopis* zukommt.

---

[1]) Die Arbeit von Rothschild in: Thompson, Yates and Johnston Laboratories Report VII, 1906, ist uns leider nicht zugänglich gewesen.

Eine besondere Besprechung erfordert dagegen der dem Sandfloh (*Sarcopsylla penetrans* L.) nahestehende Geflügelfloh (*Sarcopsylla gallinacea* Westw.). Vor allem wäre wichtig zu wissen, ob durch diese Art eine Übertragung der Pest von Ratte zu Ratte möglich ist; Versuche in dieser Richtung liegen jedoch unseres Wissens nicht vor; ebenso sind uns keine Angaben bekannt, ob das Pestvirus in ihnen am Leben bleibt. Feststellungen hierüber wären daher wohl immerhin von Interesse.

Da die normalen Wirtstiere von *Sarcopsylla gallinacea* das Hausgeflügel, Hühner und Enten, bilden, so ist ferner in Erwägung zu ziehen, ob eine Ausbreitung der Pest von Ratten auf Hühner und Enten und von diesen, also auf indirektem Wege, auf den Menschen erfolgen könnte. Schon die im Jahre 1897 zur Erforschung der Pest nach Indien entsandte deutsche Kommission (Bericht 1899, S. 296) stellte jedoch fest, daß, entgegen verbreiteten früheren Ansichten, eine Übertragung der Pest auf Hühner, Tauben und Gänse nicht möglich ist. Die mit frischen Pestkulturen geimpften Versuchstiere überwanden die Infektion vollkommen reaktionslos. Diese Beobachtungen haben von verschiedener Seite, zuletzt durch Untersuchungen der indischen Pestkommission (Bannermann und Kápadiá, Reports 1908, XXVII, S. 211) völlige Bestätigung gefunden. Es ist daher als ausgeschlossen zu betrachten, daß die Pest durch *Sarcopsylla gallinacea* auf Geflügel übertragen werden kann, und ebenso ist es auch wenig wahrscheinlich, daß eine Ausstreuung von Pestkeimen auf den Menschen auf diesem indirekten Wege erfolgt.

Von Säugetieren werden — außer Ratten — Pferde, Katzen, Hunde und Kälber als gelegentliche Wirte von *Sarcopsylla gallinacea* angegeben (Tiraboschi, 1904, S. 305), ja es wird sogar das Vorkommen auf Kindern verzeichnet (Johnson, zitiert bei Tiraboschi). Nach den Versuchen der deutschen Pestkommission (a. a. O.) sind indessen die genannten Haustiere für Pest nicht oder nur sehr wenig empfänglich, sodaß also eine Übertragung durch *Sarcopsylla gallinacea* auf sie, und von ihnen auf den Menschen ebenfalls als höchst unwahrscheinlich betrachtet werden muß. Die Beobachtung schließlich, daß diese Flohart den Menschen befalle, ist so vereinzelt, daß man jedenfalls eine Bestätigung abwarten muß, bevor man eine direkte Übertragung der Pest von der Ratte auf den Menschen durch sie als möglich bezeichnen kann.

Immerhin ist es, bei den vorhandenen Lücken in unsern Kenntnissen, wünschenswert, daß die Möglichkeit der Übertragung der Pest von Ratte zu Ratte durch *Sarcopsylla gallinacea* experimentel geprüft, und daß auch auf das eventuelle Vorkommen dieser Art beim Menschen erneut geachtet würde. Überhaupt wäre es von Interesse, festzustellen, welche Arten von Flöhen, speziell in den pestgefährdeten Gegenden, am Menschen angetroffen werden. Es dürfte wohl nicht schwer werden, durch systematische Sammlungen, besonders an Eingeborenen und Indiern, wie in deren Wohnungen, ein genügendes Material zusammenzubringen.

Großlichterfelde, 14. Oktober 1909.

Literatur.

1899. Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Pest im Jahre 1897 nach Indien entsandten Kommission, erstattet von Gaffky, Pfeiffer, Sticker und Dieudonné. In: Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, 16. Band. Berlin.

1908. Billet, A., La Peste en Algérie en 1907. Recherches particulières sur les rats, leurs ectoparasites et leurs rapports avec l'épidémie, dans le département de Constantine. In: Bull. Soc. pathol. exot. T. I. Paris.

1909. Conseil, E., Recherches sur la peste en Tunisie. In: Bull. Soc. pathol. exot. T. II. Paris.

1908. Jordan, K. and Rothschild, N. C., Revision of the non-combed eyed Siphonaptera. In: Parasitology. Vol. I, Nr. 1.

1906. Reports on Plague investigations in India. I. Experiments upon the transmission of plague by fleas. In: Journal of Hygiene. Vol. VI.

1907. Ebenda, XV. Further observations on the transmission of plague by fleas, with special reference to the fate of the Plague Bacillus in the Body of the Rat Flea *(P. cheopis)*. In: Journal of Hygiene. Vol. VII.

1908. Ebenda. XXVI. The part played bei Insects in the epidemiology of plague; by D. T. Verjbitski. In: Journal of Hygiene. Vol. VIII.

1908. Ebenda. XXVII. Report on experiments undertaken to discover whether the common domestic animals of India are affected by plague; by W. B. Bannermann and R. J. Kápadiâ. In: Journal of Hygiene. Vol. VIII.

1904. Tiraboschi, C., Les rats, les souris et leurs parasites cutanés dans leurs rapports avec la propagation de la peste bubonique. In: Archives de Parasitol. T. VIII, 1903/1904.

1907. Derselbe, État actuel de la question du véhicule de la peste. In: Archives de Parasitol. T. XI.

Beitrag zur Fettbestimmung in Nahrungsmitteln.

Von

Dr. Eduard Polenske,

Technischem Rat im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

---

1. Einleitung.

Für die Bestimmung des Fettes in Nahrungsmitteln kommt je nach deren Beschaffenheit entweder die Extraktion der getrockneten Substanz, oder die Ausschüttelung der gelösten Substanz mit Äther oder anderen ähnlichen Fettlösungsmitteln in Betracht.

In nachstehender Abhandlung werden zunächst die an jedes dieser beiden Verfahren geknüpften Bedingungen, sowie ihre Vorzüge und Mängel erörtert werden. Alsdann werden zwei vom Verfasser ausgearbeitete Ausschüttelungsverfahren mitgeteilt werden, von denen das eine genaue Fettbestimmungen in pflanzlichen, das andere in tierischen Nahrungsmitteln in kurzer Zeit auszuführen ermöglicht.

2. Die bisherigen Verfahren zur Bestimmung des Fettes in Nahrungsmitteln.

a) Die Fettbestimmung durch Extraktion der Trockensubstanz im Soxhletschen Extraktions-Apparat.

Dieses Verfahren, welches in die „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln usw." aufgenommen worden ist, hat zwar den Vorzug, daß es auf alle Substanzen ausgedehnt werden kann, aus denen sich eine pulverisierte Trockensubstanz herstellen läßt; eine zweckmäßige Anwendung kann es jedoch nur bei solchen Substanzen finden, deren Struktur derartig beschaffen ist, daß sie leicht von dem Äther durchdrungen werden und die vollständige Extraktion des Fettes in etwa 5 bis 6 Stunden erreicht werden kann.

Nach den bisher gemachten Erfahrungen trifft diese Bedingung für eine weit geringere Anzahl von Substanzen zu, als man früher angenommen hatte.

Sobald das Ausziehen des Fettes bei einer Substanz aber längere Zeit in Anspruch nimmt und sich, wie es häufig vorkommt, auf 24 Stunden und länger ausdehnt, dann kann dieses Verfahren nicht mehr als praktisch bezeichnet werden. Außerdem können bei der langen Extraktionsdauer außer Fett schon erheblich ins Gewicht fallende Mengen von Fremdstoffen in das Ätherextrakt gelangen, die bei kürzerer Dauer belanglos sind. Dieser Übelstand könnte allerdings durch Reinigen des Rohfettes beseitigt werden.

Ein weit größerer diesem Verfahren anhaftender Nachteil besteht darin, daß die in manchen Nahrungsmitteln in reichlicheren Mengen vorhandenen gummösen Stoffe, wie z. B. Zucker, Leim, Eiweiß u. dergl., beim Trocknen der Substanz Fetteilchen mit einer für Äther undurchdringlichen Umhüllung einschließen. Ob in solchen Fällen durch mehrmaliges Zerreiben der teilweise entfetteten Substanz eine Freilegung sämtlicher Fetteilchen erreicht wird, ist oft fraglich und muß daher dem Zufall überlassen bleiben. Aus diesen Gründen kann bei den hier in Betracht kommenden wichtigen Nahrungsmitteln wie Fleisch, Milch, Käse und Brot, ein bei fortgesetzter Fettextraktion konstant bleibendes Gewicht des Ätherrückstandes ebensowenig über den Erschöpfungsgrad sichern Aufschluß geben, wie eine fortschreitende Zunahme dieses Gewichts, weil letztere auch von gelösten Fremdstoffen herrühren kann. Dieser Nachteile wegen hat man das Extraktions-Verfahren zur Bestimmung des Fettes in Milch oder Käse schon lange verlassen und durch zweckmäßigere besondere Ausschüttelungs-Methoden ersetzt.

b) Das Ausschüttelungs-Verfahren.

Dieses Verfahren kann mit Erfolg nur bei solchen Substanzen angewendet werden, aus denen sich geeignete Flüssigkeiten herstellen lassen, die das Fett in solchem Zustande enthalten, daß es mit Äther oder ähnlichen Lösungsmitteln ausgeschüttelt werden kann. Zur Herstellung dieser Flüssigkeiten werden Säuren oder Alkalien mit der Vorsicht verwendet, daß eine Zerstörung oder Verseifung des Fettes nicht stattfindet. Von Alkalien kommt zurzeit hauptsächlich nur Ammoniakflüssigkeit, und zwar zur Aufschließung der Milch, in Betracht. Zur Lösung von Fleisch und Käse werden mehr oder weniger verdünnte Säuren verwendet, von denen Salzsäure und Schwefelsäure bevorzugt werden. Die meisten aus dem Tierreiche stammenden Nahrungsmittel werden bis auf das Fett von diesen Säuren vollständig gelöst, während Pflanzenstoffe schon ihres Gehalts an Zellulose wegen nur teilweise gelöst, aber bei geeigneter Behandlung in mehr oder weniger ausreichender Weise aufgeschlossen werden können. Vollständige Lösungen der zu entfettenden Substanzen haben den Vorzug, mit der fettlösenden Ausschüttelungsflüssigkeit keine oder höchstens leicht zerfallende Emulsionen zu bilden, so daß sich beide Flüssigkeiten nach dem Ausschütteln genau voneinander trennen lassen. In diesem Falle kann zur Bestimmung des Fettes sowohl die gesamte Fettlösung als auch ein aliquoter Raum- oder Gewichtsteil derselben verwendet werden. Unvollständige Lösungen dagegen bilden während des Ausschüttelns leicht Emulsionen, die oft erst nach längerer Zeit und auch dann nur teilweise zerfallen, so daß eine vollständige Abscheidung des Äthers nicht stattfindet und die Bestimmung des Fettes nur in einem aliquoten Teil der Fettlösung ausgeführt werden kann.

Die Vorteile des Ausschüttelungsverfahrens gegenüber dem der Extraktion der Trockensubstanz bestehen außer in der schnelleren Ausführung hauptsächlich darin, daß sich durch die in den aufeinanderfolgenden Ausschüttelungen vorhandenen Fettmengen der Abschluß der Fettextraktion genau feststellen läßt. Wie später gezeigt werden wird, enthält bei geeigneten Mengenverhältnissen schon die zweite Ausschüttelung weniger als 1% des gesamten vorhandenen Fettes. (Vergl. Tab. C.)

Von wesentlichem Einfluß auf die Reinheit des Fettes sind die hierzu verwendeten Ausschüttelungsmittel, von denen in dieser Abhandlung nur auf den Äther (Äthyläther) und eine aus gleichen Raumteilen Äther und Petroläther bestehende Mischung (Äthergemisch) eingegangen werden soll. Für ausreichend rein wird das extrahierte Fett gewöhnlich dann gehalten, wenn es sich in dem Äthergemisch klar löst. Schwache Trübungen werden kaum beanstandet. Zeigen sich jedoch erhebliche Mengen ungelösten Rückstandes, wie es bei der Extraktion von Pflanzenstoffen mit reinem Äther nicht selten vorkommt, dann erscheint eine Reinigung des Fettes geboten, obgleich dies in den „Vereinbarungen" nicht vorgesehen ist.

Sofern schon mit Äther ein einigermaßen reines Fett erhalten wird, wie es bei mehreren aus dem Tierreich stammenden Nahrungsmitteln zutrifft, ist gegen seine Verwendung zur Fettextraktion nichts zu erinnern, zumal Äther andern Fett-Lösungsmitteln dadurch überlegen ist, daß er besser adhäriert und sich mit den Substanzlösungen inniger mischt. Auch wäre noch darauf hinzuweisen, daß die bisherigen Angaben über den Fettgehalt der meisten Nahrungsmittel sich auf das Ätherextrakt beziehen.

Zieht man aber in Erwägung, daß die Milch- und Käsefettbestimmungen — deren Häufigkeit bei der Nahrungsmitteluntersuchung die aller übrigen Fettbestimmungen weit überragt — schon seit langer Zeit mit dem genannten Äthergemisch ausgeführt werden, so liegt kein Hinderungsgrund vor, unter Anwendung des Ausschüttelungs-Verfahrens auch bei Pflanzenstoffen sich dieses Gemisches zu bedienen, sobald hierfür zweckentsprechende Verfahren bekannt geworden sind. Von diesen Verfahren wird demjenigen der Vorzug zu geben sein, welches die vielseitigste Anwendung gestattet.

Im Anschluß an die vorstehenden Erörterungen soll zunächst ein vom Verfasser ausgearbeitetes Ausschüttelungs-Verfahren zur Bestimmung des Fettes in Pflanzenstoffen mitgeteilt werden, welches sich nach den bisher damit gemachten Erfahrungen als sehr zuverlässig erwiesen hat.

3. Neues Ausschüttelungs-Verfahren zur Bestimmung des Fettes in Pflanzenstoffen.

Bei den schon bekannten hierhergehörigen Methoden erstreckt sich die Aufschließung der Pflanzenstoffe lediglich auf die Verzuckerung der Stärke durch Erhitzen der pulverisierten Substanz mit verdünnten Mineralsäuren. Auch in dem vom Verfasser bereits im Jahre 1893 veröffentlichten Ausschüttelungs-Verfahren zur Bestimmung des Fettgehalts in Mehlen und Brot[1]), sowie in einem kürzlich von A. Palmquist empfohlenen Verfahren zur Fettbestimmung in Futtermitteln[2]) handelt es sich bei der Aufschließung der Substanz nur um die Verzuckerung der darin vorhandenen Stärke.

Mit der Verzuckerung der die ganze Substanz durchsetzenden Stärkekörner ist zwar auch eine Auflockerung des Pflanzengewebes verbunden, daß aber hierbei stets

[1]) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. VIII, 678 ff., 1893.

[2]) Dieses in „Landwirtsch.-Versuchsstat." 69, 461, 1908 veröffentlichte Verfahren ist seiner umständlichen Ausführung wegen nicht als praktisch zu bezeichnen.

reine vollständige Freilegung des Fettes erreicht wird, konnte durch die in dieser Richtung ausgeführten Versuche nicht bestätigt werden. Nicht nur die mit verschiedenem Säurezusatz oder bei verschieden langer Erhitzungsdauer, sondern auch die unter gleichen Bedingungen ausgeführten Versuche führten oftmals zu ungenügend übereinstimmenden Ergebnissen über den Fettgehalt einer Substanz.

Bei Anwendung stärkerer Säuren erfolgt bei 100° eine schnelle Verzuckerung der Stärke und meistens auch eine vollständige Aufschließung der Substanz, aber gleichzeitig entstehen hierbei anderweitige Zersetzungsprodukte, die sich teilweise in Äther lösen und das Fett stark braun färben. Diese Erscheinung machte sich bei einigen Mehlsorten schon nach halbstündiger Erhitzung mit Normal-Schwefelsäure geltend. Bei Verwendung sehr verdünnter Säuren findet langsamere Verzuckerung der Stärke und oftmals eine mangelhafte Aufschließung des Pflanzengewebes statt. Bei den in Tabelle B verzeichneten Versuchen wurden etwa 4 g von den Mehlsorten mit 25 ccm $^n/_2$ Salzsäure 20 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt, wodurch wohl die Verzuckerung der Stärke, aber nicht eine genügende Aufschließung der Substanz erreicht wurde.

Die Ursache dafür, daß der unter gleichen Bedingungen ermittelte Fettgehalt einer Substanz verschieden ausfiel, konnte nur in der Einwirkung anderweitiger Bestandteile der Substanz zu suchen sein. Zu den Bestandteilen der Pflanzenstoffe, die hierfür hauptsächlich in Betracht kommen, gehören Zellulose und Eiweißstoffe, von denen die Zellulose bei der Behandlung mit verdünnten Säuren unverändert bleibt, und die Eiweißstoffe durch Gerinnen in einen unlöslichen Zustand übergeführt werden. Infolge des letzteren Vorganges lag die Möglichkeit vor, daß das geronnene Eiweiß eingeschlossene Fettteilchen enthielt, die sich der Ausschüttelung mit Äther entziehen.

Um eine Bestätigung dieser Annahme herbeizuführen, mußte daher versucht werden, die Aufschließung der Substanz auch auf die Lösung der Eiweißstoffe auszudehnen, was in Anlehnung an die Röse-Gottliebsche Milchfettbestimmungsmethode [1]) ganz oder doch teilweise zu erreichen war, wenn nach erfolgter Verzuckerung der Stärke die erkaltete Flüssigkeit bis zur stark alkalischen Reaktion mit Ammoniakflüssigkeit versetzt wurde.

Nach dem folgenden unter Berücksichtigung vorstehender Gesichtspunkte ausgearbeiteten Ausschüttelungs-Verfahren sind in einer Reihe verschiedener Pflanzenstoffe Fettbestimmungen ausgeführt worden, deren Ergebnisse hinsichtlich der Ausbeute und Reinheit des Fettes den Schluß zulassen, daß der wirkliche in der Substanz vorhandene Fettgehalt ermittelt wurde.

Zur Ausführung des Verfahrens gebe ich nachstehende Vorschrift:

„Von der sorgfältig durchgemischten, pulverisierten lufttrockenen Substanz werden von Mehlsorten 3—4 g, von fettreicheren Substanzen (z. B. Kakao, Ölsamen u. a.) 1—1,5 g in einem mit Glasstopfen verschließbaren Erlenmeyerschen Kolben aus Jenaer Glase — von etwa 220—250 ccm Rauminhalt, einem unteren Durchmesser von etwa 7 cm, einer Höhe bis zum Halsansatz von etwa 15 cm und etwa 55 g Gewicht mit Stopfen — mit 25 ccm etwa halbnormaler Salzsäure (73 g Salzsäure vom spez.

---

[1]) Landwirtsch. Versuchsstat. (1892), **40**, 6.

Gew. 1,125 : 1 L) gemischt und mit aufgesetztem Kühlrohr 20 Minuten lang unter mehrmaligem Umschwenken des Kolbens in einem kochenden Wasserbade (Kolben im siedenden Wasser) erhitzt. Zu der erkalteten Flüssigkeit setzt man unter Kühlen des Kolbens 5 ccm Ammoniakflüssigkeit vom spez. Gew. 0,96 und dann 20 ccm 90 volumprozentigen Alkohol. Hierauf läßt man aus einer Pipette 50 ccm Äther, bei 18° abgemessen, zufließen und schüttelt den Inhalt zwei Minuten lang kräftig durch. Nach weiterem Zusatz von 50 ccm Petroläther vom Siedepunkt 50—55°, bei 18° abgemessen, wird die Durchschüttelung eine Minute lang wiederholt. Alsdann stellt man den Kolben in Wasser von 18°, um die Schichten sich absetzen zu lassen. Nach Verlauf von etwa 15 bis 20 Minuten entnimmt man sogleich nach dem Öffnen des Kolbens mittels der vorher verwendeten 50 ccm - Pipette, die bei 52 ccm Inhalt mit einer Marke versehen wird, 52 ccm von dem klar abgeschiedenen Äthergemisch und läßt es durch einen geräumigen Trichter, in dessen Ansatzrohr ein fest zusammengepreßter, entfetteter, etwa 2 cm langer Wattestopfen sich befindet, in ein tariertes Destillierkölbchen mit solcher Geschwindigkeit fließen, daß die Flüssigkeit in etwa 10 Minuten vollständig durchgeflossen ist. Die Abmessung des Äthers und Petroläthers, sowie die Entnahme der Äther-Fettlösung mittels der Pipette erfolgt in der Weise, daß man das betreffende Gefäß mit einem doppelt durchbohrten Stopfen verschließt. In der einen Öffnung des Stopfens befindet sich die hinreichend tief in die Äther-Flüssigkeit eintauchende Pipette und in der andern ein Glasröhrchen mit Schlauchansatz. Bei vorsichtigem Einblasen von Luft durch den Schlauch wird die Flüssigkeit in die Pipette gedrückt und kann dann leicht in gewünschter Menge abpipettiert werden. Zum Nachwaschen der Trichterwandung und des Wattestopfens werden 3 mal je etwa 2 ccm einer aus gleichen Teilen Äther und Petroläther bereiteten Mischung verwendet. Zur Verhütung einer Siedeverzögerung bringt man in das Filtrat einige unwägbare Staubteilchen feinsten Bimssteinpulvers und destilliert dann den Äther ab. Hierauf wird das an seiner Außenfläche gereinigte Kölbchen etwa ³/₄ Stunde lang im Wassertrockenschrank getrocknet, worauf man es zuerst etwa 30 Minuten lang im Exsikkator, dann 5 Minuten lang im Wagekasten erkalten läßt und ohne jedes weitere Abreiben mit einem Tuche wägt. Die gefundene Gewichtszunahme des Kölbchens verdoppelt, ergibt den Fettgehalt in der angewandten Substanzmenge".

Zur Begründung der Einzelheiten dieser Vorschrift mögen folgende Erläuterungen dienen:

1. Ein bestimmter Feinheitsgrad des Pulvers der Substanz braucht nicht vorgeschrieben zu werden, weil die Aufschließung der Pflanzenstoffe erfolgt, wenn deren Pulver nicht gröber ist, als das der feinsten Grießsorten.

2. Die zur Aufschließung zu verwendenden Erlenmeyerschen Kolben weichen in der Form von denjenigen, die zur Bestimmung der Jodzahl üblich sind, durch einen geringeren Umfang des Bodens und größere Höhe ab. Hierdurch wird zur bequemen Entnahme der Fettlösung eine genügend hohe Ätherschicht geschaffen. Die Stärke der Kolbenwandung ergibt sich aus dem angegebenen Gewicht.

3. Die zu verwendenden 5 ccm Ammoniakflüssigkeit verteilen sich auf etwa 2,2 ccm zur Neutralisation der Salzsäure und den Rest zum Lösen der Eiweißstoffe.

4. Der Zusatz von Alkohol verhindert die störende Emulsionsbildung, ohne den Übergang des Fettes in die Ätherschicht nennenswert zu beeinflussen.

5. Das Volumen der verwendeten Mischung von 50 ccm Äther und 50 ccm Petroläther wird beim Ausschütteln einerseits durch Abgabe von Äther an das Wasser vermindert, anderseits durch Aufnahme von etwas Alkohol und Fett vermehrt. Während bei Milchfettbestimmungen, die in engen, graduierten Schüttelzylindern ausgeführt werden, das schließliche Volumen der ätherischen Schicht jedesmal unmittelbar abgelesen werden kann, ist dies hier wegen der zur Aufschließung erforderlichen Erhitzung und weil die beiden Schichten oft nicht durch eine scharfe Grenze getrennt sind, nicht ausführbar. Es wurde daher ein für allemal die Volumveränderung der ätherischen Schicht bei Anwendung der angegebenen Mengenverhältnisse festgestellt. Zu diesem Zwecke wurden gewogene Mengen Paraffinöl genau nach der gegebenen Vorschrift behandelt. (Das Erhitzen mit der Säure erwies sich hier ohne Einfluß.) Die in einem gemessenen Raumteil der ätherischen Schicht wiedergefundenen Mengen Paraffinöl ergaben rechnerisch das Gesamtvolumen der Fettlösung (Tabelle A a, Versuch 6—11). Die so ermittelte Volumvermehrung wurde ferner noch durch einige Versuche bestätigt, bei denen in graduierten Zylindern die angegebenen Mengen Salzsäure, Ammoniak, Alkohol, Äther und Petroläther ohne Fett geschüttelt und das Volumen der ätherischen Schicht bei 18° unmittelbar abgelesen wurde (Tabelle A a, Versuch 1—5). Die Abwesenheit von Fett bei den letztgenannten Versuchen beeinflußt das Volumen der ätherischen Schicht nur ganz unwesentlich. Im Hinblick darauf, daß es sich bei diesem Verfahren um die Bestimmung von Fettmengen bis etwa 0,6 g handelt, kommen nur die Versuche 6—9 in Betracht, welche zeigen, daß sich bei einer Temperatur von 18° 103,8 bis 104,3 ccm — im Durchschnitt nahezu 104 ccm — ätherische Schicht abscheiden. Der einfacheren Berechnung wegen empfiehlt es sich daher, in 52 ccm, der durchschnittlichen Hälfte der abgeschiedenen Fettlösung, die in angegebener Weise mit einer Pipette bequem entnommen werden können, den Fettgehalt festzustellen.

Unter b sind in Tabelle A (Seite 569) die Volumina der ätherischen Schicht vermerkt worden, die sich bei dem später angeführten Verfahren zur Bestimmung des Fettes in tierischen Stoffen, wobei Alkohol nicht zugesetzt wird, abscheiden.

6. Durch das Filtrieren, das nur etwa 10 Minuten Zeit in Anspruch nimmt, erhält man stets vollkommen klare Fettlösungen, nachdem schon vorher durch das Absetzenlassen in Wasser von 18° während 15 Minuten sich die ätherische Schicht hatte hinreichend klären können.

7. Werden die das Fett enthaltenden Destillierkölbchen kurz vor der Wägung mit einem Tuche abgerieben, dann machen sich die hierdurch entstehenden elektrischen Ladungen beim Wägen oft in störender Weise bemerkbar; gelangen ferner die Kölbchen gleich nach der Entnahme aus dem Exsikkator zur Wägung, so findet infolge der Ausbildung einer Feuchtigkeitshaut während der Wägung eine mindestens 5 Minuten andauernde Gewichtszunahme statt. Bei der vorgeschriebenen Behandlung der Kölbchen treten diese beiden Erscheinungen nicht auf.

Tabelle A. Volumenbestimmung der ätherischen Schicht.

Temperatur 18°.

Nr. der Versuche	1. Angewandte Menge Paraffinöl g	2. Gefundene Menge Paraffinöl in 50 ccm der ätherischen Schicht g	3. Aus dem Paraffinölgehalt (Spalte 2) berechnetes Volumen der ätherischen Schicht ccm	
		a) Lösung für Pflanzenstoffe.		
1—5 [1])	0	—	103,8—104 [2])	
6	0,1295	0,0624	103,8	Mittel: **104,1**
7	0,0940	0,0452	104,0	
8	0,6163	0,2955	104,3	
9	0,556	0,2665	104,3	
10	1,277	0,610	104,8	
11	0,9858	0,470	105,0	
		b) Lösung für tierische Stoffe.		
12—16 [1])	0	—	98,4—98,8 [2])	
17	0,1263	0,0642	98,4	Mittel: **98,8**
18	0,082	0,0416	98,6	
19	0,5624	0,284	99,0	
20	0,554	0,279	99,3	
21	0,9227	0,462	99,9	
22	0,9528	0,475	100,3	

8. Nicht nur in lufttrockenen Pflanzenstoffen, sondern auch in frischem Gemüse oder Früchten kann, falls es erforderlich ist, nach diesem Verfahren der Fettgehalt bestimmt werden, indem man, je nach ihrem Wassergehalt, 10 bis 20 g der zu einem gleichmäßigen Brei zerriebenen Substanz mit 1,82 g Salzsäure (spez. Gew. 1,125) und mit Wasser bis zu 25 ccm Verdünnung versetzt und nach der Vorschrift weiter verfährt (vergl. Tabelle B (Seite 570), Versuch 15 und 16).

Die folgende Tabelle B enthält die nach vorstehend beschriebenem Ausschüttelungsverfahren und gleichzeitig auch die nach dem Soxhletschen Extraktionsverfahren ermittelten Ergebnisse über den Fettgehalt einer Reihe verschiedener pflanzlicher Nahrungsmittel.

Die nach dem beschriebenen Ausschüttelungsverfahren ausgeführten Parallelbestimmungen in Tabelle B stimmen untereinander gut überein, weil in diesen Substanzen das Fett gleichmäßig verteilt ist. Die geringere Fettausbeute bei dem Soxhletschen Verfahren muß auf eine ungenügende Extraktion des Fettes zurückgeführt werden. Dies trifft besonders für Brot zu, worauf ich schon 1893 (a. a. O.) aufmerksam gemacht habe. Dagegen rührten die nach dem Ausschüttelungsverfahren erhaltenen niedrigeren Werte gegenüber dem Soxhletverfahren (z. B. bei Linsenmehl, Erbsenmehl und Kakao) von der größeren Reinheit des nach dem Ausschüttelungsverfahren erhaltenen Fettes her, die sich schon durch das Aussehen des Fettes zu erkennen gab.

[1]) Die Versuche 1—5 und 12—16 wurden in graduierten Zylindern ausgeführt.

[2]) Unmittelbar abgelesenes Volumen.

Tabelle B. Fettbestimmung in pflanzlichen Nahrungsmitteln.

Nr. der Versuche	Bezeichnung der Substanz	Gefundener Fettgehalt		
		nach dem beschriebenen Ausschüttelungsverfahren %	nach dem Soxhletschen Extraktionsverfahren	
			in 6 Stunden %	in 10 Stunden %
1	Hohenlohes Bohnenmehl	1,68 1,74 1,75	1,41	1,47
2	Knorrs Linsenmehl	1,36 1,39 1,41	1,40	1,56
3	„ Erbsenmehl	1,57 1,60 1,62	1,52	1,79 [1]
4	„ Grünkernextrakt	2,27 2,31 2,32	2,05	2,13
5	Weizenmehl	1,46 1,46 1,48	1,28	1,36
6	Roggenmehl	1,45 1,47 1,50	0,89	1,01
7	Hafermehl	5,89 5,92 5,96	5,30	5,38
8	Gerstenmehl	1,15 1,18 1,18	0,61	0,65
9	Maismehl	0,45 0,46 0,48	0,19	0,32
10	Reismehl	1,10 1,13 1,13	0,64	0,71
11	Bäckerbrot	0,83 0,85 0,86	0,18	0,20
12	Soldatenbrot	1,03 1,05 1,07	0,26	0,30
13	Kakao	29,38 29,39 29,44	29,90 [1]	29,98 [1]
14	Schokolade	22,94 22,95 23,00	22,60 [1]	22,92 [1]
15	frische Bananen	1,88 1,91	—	—
16	„ grüne Schnittbohnen	1,00 1,06	—	—

[1]) Sehr unreines Fett.

4. Neues Ausschüttelungsverfahren zur Bestimmung des Fettes in Fleisch und Käse.

Für diese Bestimmung ist kürzlich von E. Baur und H. Barschall[1]) ein beachtenswertes Ausschüttelungsverfahren veröffentlicht und empfohlen worden, auf welches zunächst näher eingegangen werden soll.

Nach der von den genannten Autoren gegebenen Vorschrift läßt man das von Sehnen und anhängendem Fett befreite Muskelfleisch viermal durch die Fleischhackmaschine gehen und zerquetscht dann einen Anteil des zerkleinerten Fleisches in einer Reibschale zu einem gleichmäßigen Brei. Hiervon wägt man für jede Bestimmung etwa 2 g im Standkolben ab und übergießt diese mit 20 ccm eines aus gleichen Raumteilen Wasser und konzentrierter Schwefelsäure (spez. Gew. 1,81) bestehenden Gemisches. Dann wird das Fleisch auf dem siedenden Wasserbade unter zeitweiligem Umschwenken des Kolbens in 20 bis 30 Minuten gelöst. Die mit Wasser auf 100 ccm verdünnte Fleischlösung wird nach dem Erkalten in einem Scheidetrichter mit 100 ccm Äther, in dem das an den Wandungen des Kolbens noch anhaftende Fett vorher gelöst worden ist, ausgeschüttelt. Nach dem Absetzen trennt man beide Schichten und gießt die Ätherschicht in ein Becherglas. Dort läßt man sie eine Zeitlang stehen, damit kleinste Wassertröpfchen, die sie noch enthalten könnte, sich auf dem Boden des Becherglases absetzen. Die Ausschüttelung wird in gleicher Weise noch einmal wiederholt. Aus dem Becherglase gießt man die Ätherlösung vorsichtig in ein gewogenes Destillierkölbchen und destilliert den Äther ab. Der Rückstand wird $^1/_2$ Stunde lang im Wasserdampfschrank getrocknet und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen.

Zur Kontrolle wurde von den Autoren gleichzeitig der Fettgehalt in mit Pepsin-Salzsäure hergestellten Fleischlösungen festgestellt, der mit dem nach dem gegebenen Verfahren erhaltenen gut übereinstimmte.

Die Nachprüfung dieses Verfahrens führte zu folgenden Bemerkungen und Ergebnissen:

Die Übereinstimmung der Fettmengen in den nach beiden Aufschließungsverfahren hergestellten Fleischlösungen zeigt zwar schon an, daß durch die Behandlung des Fleisches mit der ziemlich konzentrierten Schwefelsäure eine auch nur teilweise Zerstörung des Fettes nicht stattgefunden haben kann; indessen erschien es doch von Interesse, durch Versuche mit bekannten Fettmengen hierfür eine weitere Bestätigung beizubringen und gleichzeitig festzustellen, wie sich die Fettmenge auf die einzelnen Ätherausschüttelungen verteilt. Über diese beiden Punkte gibt Tabelle C (Seite 572) Aufschluß.

Die erste Versuchsreihe in Tabelle C zeigt, daß sich das ursprüngliche Gewicht der drei verschiedenen Fettarten nicht vermindert hat, obgleich die Fette mit je 20 ccm des aus gleichen Raumteilen Wasser und konzentrierter Schwefelsäure (vom spez. Gew. 1,81) hergestellten Gemisches unter Benutzung eines Kühlrohrs und öfterem Umschütteln 20 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt worden waren. Ferner zeigt dieser Versuch, daß bei vier aufeinanderfolgenden Ausschütte-

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XXX, S. 55. 1909.

Tabelle C. Fettbestimmung nach Baur und Barschall.

	Bezeichnung des Fettes					
	Rindertalg g		Schweineschmalz g		Butterfett g	
Erste Versuchsreihe.						
Angewandte Menge des Fettes	0,477		0,6033		0,5517	
Fettgehalt der 1. Ausschüttelung mit 100 ccm Äther	0,4743	0,4777	0,6006	0,6036	0,5480	0,5506
Fettgehalt der 2. Ausschüttelung mit 100 ccm Äther	0,0034		0,0030		0,0026	
Fettgehalt der 3. Ausschüttelung mit 100 ccm Äther	0,0006		0,0008		0,0006	
Fettgehalt der 4. Ausschüttelung mit 100 ccm Äther	0,0004		0,0003		0,0005	
Zweite Versuchsreihe.						
Angewandte Menge des Fettes	0,3985		0,5444		0,4680	
Fettgehalt der 1. Ausschüttelung mit 100 ccm Äther	0,3950	0,3980	0,5418	0,5446	0,4643	0,4673
Fettgehalt der 2. Ausschüttelung mit 50 ccm Äther	0,0030		0,0028		0,003	
Fettgehalt der 3. Ausschüttelung mit 50 ccm Äther	0,0004		0,0005		0,0004	
Fettgehalt der 4. Ausschüttelung mit 50 ccm Äther	0,0004		0,0004		—	

lungen mit je 100 ccm Äther fast die gesamte Fettmenge sich schon in der ersten Ausschüttelung befindet; die zweite Ausschüttelung enthält nur noch weniger als 1 % von dem angewandten Fett, und die Rückstände der dritten und vierten Ausschüttelungen können nicht mehr als wägbare Fettmengen bezeichnet werden.

Durch die zweite Versuchsreihe der Tabelle C werden die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe bestätigt, außerdem aber wird hierdurch festgestellt, daß unbeschadet der Richtigkeit des Ergebnisses anstatt 100 ccm schon 50 ccm Äther für die zweite Ausschüttelung vollkommen ausreichen.

Da sich bei der Nachprüfung des Verfahrens zuweilen störende Emulsionserscheinungen geltend machten, so halte ich es für notwendig, auf diese hinzuweisen und zu zeigen, wie sie möglichst vermieden werden können.

Meistens treten beim Ausschütteln der vorschriftsgemäß hergestellten Fleischlösungen mit Äther entweder keine oder sehr leicht zerfallende Emulsionsbildungen auf, so daß beide Flüssigkeiten schon kurze Zeit nach der Ausschüttelung durch eine ziemlich scharfe Grenzlinie geschieden werden, wodurch es ermöglicht wird, die Fleischlösung von dem Äther fast genau abzutrennen. In mehreren Fällen jedoch zeigte die entstandene Emulsion einen hartnäckigen Zusammenhalt und hinterließ dann stets bei ihrem oft erst nach mehreren Stunden erfolgenden Zerfall ein sich auf der Grenzlinie beider Flüssigkeiten ansammelndes Gerinnsel von geringerem oder größerem Umfange, wodurch die erforderliche genaue Trennung beider Flüssigkeiten

verhindert wurde. Nachdem durch die mikroskopische Untersuchung festgestellt worden war, daß sich in dem Gerinnsel noch nicht gelöste Fleischfasern befanden, welche die Emulsionsbildung verursachten, wurden die Fleischlösungen nicht nur bis zum Verschwinden der Fleischstücke, sondern noch weitere 10 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt und hierdurch eine so vollständige Lösung des Fleisches erreicht, daß derartige Emulsionen nicht mehr auftraten.

Es ist ferner empfehlenswert, ein bestimmtes Zeitmaß für das Stehenlassen des Äthers im Becherglase festzusetzen, damit sich auch die letzten Wassertröpfchen abscheiden können. Wie aus der Tabelle D hervorgeht, ist hierfür mindestens $^1/_2$ Stunde erforderlich.

Auch erwies sich das Filtrieren der Äther-Fettlösung durch einen Wattestopfen, wie es bei der Fettbestimmung in Pflanzenstoffen vorgeschrieben ist, um so empfehlenswerter, als dabei auch die noch vorhandenen Schwefelsäurespuren zurückgehalten werden, was sich an der mehr oder minder starken Verkohlung des scharf getrockneten Wattestopfens deutlich zu erkennen gibt. Auch über diesen Punkt gibt die Tabelle D Aufschluß.

Tabelle D. Reinigung der ätherischen Fettlösung.

Bei den Versuchen I und II wurden anstatt der verdünnten Fleischlösungen Gemische aus 10 ccm konz. Schwefelsäure und 90 ccm Wasser, bei dem Kontrollversuch III 100 ccm destilliertes Wasser ohne Säurezusatz mit je 100 ccm Äther ausgeschüttelt.

	ccm $^n/_{100}$ Barytlauge, die zur Neutralisation des in Wasser gelösten Rückstandes von 100 ccm Ausschüttelungs-Äther erforderlich waren	Trübung durch Baryumsulfat bei der Titration	Zustand des getrockneten Wattestopfens an seinem oberen Ende
Versuch I.			
Äther nach 15 Minuten langem Absetzen:			
a) abgegossen	0,4	deutlich	—
b) filtriert	0,25	0	deutlich geschwärzt
Äther nach 30 Minuten langem Absetzen:			
a) abgegossen	0,3	schwach	—
b) filtriert	0,15	0	schwach grau gefärbt
Versuch II.			
Äther nach 15 Minuten langem Absetzen:			
a) abgegossen	0,35	deutlich	—
b) filtriert	0,20	0	schwach grau gefärbt
Äther nach 30 Minuten langem Absetzen:			
a) abgegossen	0,25	0	—
b) filtriert	0,17	0	keine Färbung
Kontroll-Versuch III.			
Äther nach 15 Minuten langem Absetzen:			
a) abgegossen	0,10	0	—
b) filtriert	0,10	0	keine Färbung.

Die Versuche in vorstehender Tabelle zeigen, daß der in ein Becherglas gegossene Äther auch noch nach 30 Minuten langem Absetzen durch die Wattereaktion nachweisbare Spuren von Schwefelsäure enthalten kann. Diese Spuren haben zwar auf das Ergebnis keinen Einfluß, sie können aber durch das Filtrieren gänzlich aus dem Äther entfernt werden, weshalb das nur etwa 15 Minuten Zeit in Anspruch nehmende Filtrieren des Äthers nach 15 oder noch besser nach 30 Minuten langem Absetzen entschieden zu empfehlen ist.

Durch diese Ergänzungen, die sich 1. auf eine vollständigere Lösung des Fleisches, 2. auf eine Herabsetzung der zur zweiten Ausschüttelung verwendeten Äthermenge und 3. auf das Filtrieren des Äthers erstrecken, erhält das Baur-Barschallsche Verfahren, ohne jede Beeinträchtigung des quantitativen Ergebnisses, eine größere Sicherheit in seiner Ausführung.

Hinsichtlich des Abdestillierens des Äthers und der Wägung des Ätherrückstandes ist auf das schon hierüber Gesagte zu verweisen.

Auch in Wurst ist nach diesem Verfahren der Fettgehalt bestimmt worden. Zur Herstellung einer gleichmäßigen Durchschnittsprobe sind die in der Wurst vorhandenen Pfeffer- und Gewürzkörner vor dem sorgfältigen Zerreiben der Wurstmasse zu entfernen. Von fettreicher Wurst sind für den Versuch 1 bis 1,5 g ausreichend. Nach dem ersten Ausschütteln mit Äther sammeln sich auf der Grenzfläche beider Flüssigkeiten manchmal geringe Mengen ungelöster Stoffe an, denen durch die zweite Ausschüttelung mit Äther das darin noch verbliebene Fett entzogen wird.

Daß Fleischlösungen durch reinen Äther außer Fett nur geringe Mengen anderweitiger Bestandteile entzogen werden, ergab sich schon aus der äußeren Beschaffenheit des Destillationsrückstandes und konnte auch noch dadurch nachgewiesen werden, daß er sich in einem Gemisch von Äther und Petroläther ziemlich klar löste und die filtrierte Lösung einen Destillationsrückstand hinterließ, dessen Gewicht nicht erheblich kleiner als das des Rohfettes war.

In Tabelle E (Seite 575) befindet sich eine Gegenüberstellung des Fettgehaltes in einigen Fleisch- und Wurstsorten, wie sie 1. nach dem ursprünglichen Verfahren von Baur und Barschall, 2. nach dem in der beschriebenen Weise ergänzten Verfahren und 3. nach dem Soxhletschen Extraktions-Verfahren ermittelt wurden. Aus den Spalten 2 und 3 ergeben sich die Unterschiede zwischen Rohfett und mit Äther + Petroläther gereinigtem Fett.

Durch die in Tabelle E verzeichneten Ergebnisse wird die schon lange bekannte Tatsache wiederum bestätigt, daß muskelreichem mageren Fleisch nach dem Soxhletschen Extraktionsverfahren kaum die Hälfte seines Fettgehaltes, wie dies auch für Brot zutrifft (vergl. Tab. B) entzogen wird. Die Ursache hierfür ist bereits früher zum Ausdruck gebracht worden.

Wie sich aus den Spalten 1 und 2 ergibt, werden nach dem ursprünglichen Verfahren von Baur und Barschall und dem ergänzten Verfahren gut übereinstimmende Werte erhalten.

Tabelle E. Fettbestimmung in Fleisch und Wurst nach verschiedenen Verfahren.

Fleischsorte	1.	2.	3.	4.	
	Fettgehalt nach dem ursprünglichen Verfahren von Baur und Barschall	Fettgehalt nach dem ergänzten Baur-Barschallschen Verfahren	Fettgehalt durch Reinigung des Fettes der Spalte 2 mit Äther und Petroläther	Fettgehalt nach dem Soxhletschen Extraktionsverfahren nach	
				6 Stdn.	10 Stdn.
	%	%	%	%	%
Rindfleisch I	0,64 0,66	0,63 0,66	. . . 0,60	0,31	0,35
„ II	1,60 1,72	1,58 1,62	. . . 1,54	0,56	0,62
„ III	1,40 1,48	1,43 1,46	. . . 1,38	0,64	0,73
Schweinefleisch I	2,40 2,49	2,38 2,46	. . . 2,28	2,07	2,08
„ II	4,70 4,82	4,73 4,85	. . . 4,68	4,23	4,57
„ III	9,19 9,30	9,19 9,25	. . . 9,10	9,05	9,11
Cervelat-Wurst I	37,33 37,52	37,38 37,50	. . . 37,25	37,20	37,35
„ „ II	39,80 40,20	39,88 40,10	. . . 39,80	39,69	39,92
„ „ III	45,18 45,40	45,20 45,42	. . . 45,28	45,07	45,24

Die Nachprüfung des Baur-Barschallschen Verfahrens hat zu dem Ergebnis geführt, daß danach besonders unter Berücksichtigung der in Vorschlag gebrachten Ergänzungen der Fettgehalt im Fleisch und in Fleischwaren genau ermittelt wird. Bei dem nunmehr zu beschreibenden, vom Verfasser ausgearbeiteten Verfahren zur Bestimmung des Fettes im Fleisch, in Fleischwaren und im Käse war der Gesichtspunkt maßgebend, es mit dem schon beschriebenen Verfahren zur Bestimmung des Fettes in Pflanzenstoffen möglichst in Einklang zu bringen.

Bei Ausschüttelungsverfahren überhaupt handelt es sich zuerst um die Lösung der Substanz und dann um die Entfettung dieser Lösung durch Ausschüttelung. Die größere Schwierigkeit von beiden verursacht bei tierischen Stoffen die Herstellung geeigneter Lösungen für die Ausschüttelung des Fettes, weil ihrer verschiedenartigen Beschaffenheit wegen ein einheitliches Lösungsverfahren, wie es bei Pflanzenstoffen in Anwendung gebracht worden ist, nicht zum Ziele führt. Nach meiner Erfahrung eignet sich die von Baur und Barschall angewandte Schwefelsäure als Lösungsmittel für Fleisch, auch für Fleischwaren und Käse besser als Salzsäure, die zur Zeit fast ausschließlich zur Lösung von Käse verwendet wird.

Die Vorversuche führten zunächst zu dem Ergebnis, daß zur Lösung von Fleisch eine schwächere als die mit dem gleichen Raumteile Wasser verdünnte Schwefelsäure ungeeignet war, daß dagegen zur Lösung von Käse schon eine mit zwei Raumteilen Wasser verdünnte Schwefelsäure ausreicht. Auch erwies es sich als zweckmäßig, ent-

sprechend der Vorschrift von Baur und Barschall, die Fleischlösung vor der Ausschüttelung soweit zu verdünnen, daß sie nicht mehr als 10 Raumteile konzentrierter Schwefelsäure in 100 Raumteilen der Lösung enthält. Ferner ging aus diesen Versuchen hervor, daß die Fettbestimmung anstatt mit 2 bis 3 g Fleisch oder Käse ohne Beeinträchtigung des Ergebnisses schon mit 1 bis 1,5 g Substanz ausgeführt werden kann und zur Lösung dieser geringeren Substanzmenge schon 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure in den genannten Verdünnungen ausreichend sind. Hierdurch wurde der Zweck erreicht, die Fleisch- und Käselösungen, in Übereinstimmung mit den Pflanzenstofflösungen, auf das gleiche Volumen von etwa 50 ccm für die Ausschüttelung zu verdünnen.

Ein Zusatz von Alkohol ist hier nicht notwendig, weil sich beim Ausschütteln des Fettes keine störenden Emulsionen bilden, wenn die Substanz vollständig gelöst war.

Die Ausschüttelung des Fettes der Fleisch- und Käselösungen erfolgte mit Äther und Petroläther genau nach der für Pflanzenstofflösungen gegebenen Vorschrift; aber das sich bei diesen Lösungen bei 18° abscheidende Volumen des Äthergewichtes betrug wegen der Abwesenheit von Alkohol nicht wie bei den Pflanzenstofflösungen im Durchschnitt 104 ccm, sondern nur 98,4 bis 99,3 ccm, im Durchschnitt 98,8 ccm (vergl. Tab. A, b). Es war daher die für die Bestimmung des Fettgehaltes zu entnehmende Hälfte der Fettlösung abgerundet auf 49,5 ccm zu bemessen.

Auf Grund dieser Ermittelungen wird für die Bestimmung des Fettes in Fleisch und Fleischwaren folgende Vorschrift gegeben:

„Etwa 1,0 bis 1,5 g[1]) einer sorgfältig hergestellten Durchschnittsprobe von Fleisch oder Fleischwaren werden in einem Erlenmeyerschen Kolben (wie er zur Aufschließung der Pflanzenstoffe in Anwendung zu bringen ist — vergl. S. 566) mit einem Gemisch von 5 ccm konz. Schwefelsäure (spez. Gew. 1,81 bis 1,84) und 5 ccm Wasser übergossen und mit aufgesetztem Kühlrohr in einem kochenden Wasserbade (Kolben im siedenden Wasser) unter häufigem Umschwenken des Kolbens bis zur Lösung der Substanz und dann noch weitere 10 Minuten lang erhitzt. Die mit 40 ccm Wasser verdünnte Lösung wird nach dem Erkalten zuerst mit 50 ccm Äther, bei 18° abgemessen, und darauf mit 50 ccm Petroläther vom Siedepunkt 50 bis 55°, bei 18° abgemessen, jedesmal 1 Minute lang kräftig durchgeschüttelt und hierauf der Kolben in Wasser von 18° gestellt. Nach 15 bis 20 Minuten langem Absetzen entnimmt man sogleich nach Öffnung des Kolbens in früher angegebener Weise (S. 567) mit einer Pipette 49,5 ccm von dem abgeschiedenen klaren Äthergemisch und verfährt im übrigen genau nach der für die Bestimmung des Fettes in Pflanzenstoffen gegebenen Vorschrift".

Die Bestimmung des Fettes in Käse ist nach folgender Vorschrift auszuführen:

„Etwa 1,0 bis 1,5 g[1]) einer sorgfältig hergestellten Durchschnitts-

[1]) Das Abwägen von Fleisch und Käse kann in schon bekannter Weise durch Einrollen der Substanz in tarierte Stanniolblättchen (etwa 3,5 : 5 cm) bewerkstelligt werden. Nach Feststellung des Gewichts wird das aufgerollte Blättchen mitsamt der etwas breit gedrückten Substanz in den Kolben gebracht.

probe des vorher von der harten Rinde befreiten Käses werden in einem Erlenmeyerschen Kolben (wie er zur Aufschließung der Pflanzenstoffe in Anwendung zu bringen ist — vergl. S. 566) mit 10 ccm Wasser und 5 ccm konz. Schwefelsäure (spez. Gewicht 1,81 bis 1,84) übergossen und mit aufgesetztem Kühlrohr über einer kleinen Flamme 2 Minuten lang unter beständigem Umschwenken des Kolbens in schwachem Sieden erhalten. Die durch Zusatz von 35 ccm Wasser verdünnte Käselösung wird im übrigen genau nach der für die Bestimmung des Fettes im Fleisch vorgeschriebenen Methode behandelt".

Dieses Fettbestimmungs-Verfahren für Fleisch und Käse stimmt mit demjenigen für Pflanzenstoffe nahe überein. Nach beiden Verfahren wird die Aufschließung bezw. Auflösung der Substanz und die Ausschüttelung des Fettes in nur einem Gefäße ausgeführt und der in der Substanz vorhandene Fettgehalt in kurzer Zeit ermittelt. Über den letzteren Punkt geben in Tabelle F (Seite 578) die nach diesem Verfahren im Vergleich mit dem ergänzten Baur-Barschallschen Verfahren erhaltenen Versuchsergebnisse Aufschluß. Für Käse enthält diese Tabelle auch noch den nach dem Soxhletschen Extraktions-Verfahren gefundenen Fettgehalt.

Bei einem Vergleich der nach den beiden Ausschüttelungs-Verfahren erhaltenen Ergebnisse zeigt sich, daß nach dem Baur-Barschallschen Verfahren infolge des mit Äther allein ausgeschüttelten und daher weniger reinen Fettes meistens ein etwas höherer Fettgehalt gefunden wird als nach der neuen Methode (vergl. Tabelle E); die Unterschiede sind jedoch kaum von praktischer Bedeutung. Fettarmen Käsesorten, wie z. B. Harzer Käse, wird nach dem Soxhletschen Extraktions-Verfahren, ebenso wie Brot und magerem Fleisch, kaum die Hälfte des darin vorhandenen Fettes entzogen.

Aus nachstehenden Versuchs-Ergebnissen geht hervor, daß die Qualität des Käsefettes (Butterfett) durch die Behandlung mit der verdünnten Schwefelsäure nicht wesentlich verändert wird.

	Reines Butterfett vor der Behandlung	Mit der Säure behandeltes Butterfett
Säurezahl	4,4	7,46
Verseifungszahl	226,5	227,1
Reichert-Meißl-Zahl	28,6	27,6
Flüchtige, ungelöste Fettsäuren (nach Polenske)	2,46	2,5
Refraktion bei 40°	42,2	42,4

Über die Methoden, welche früher zur Bestimmung des Fettes im Käse angewendet worden sind, hat C. Windisch in einer Arbeit „Über Margarinekäse" eine umfassende Literatur-Zusammenstellung veröffentlicht[1]). In dieser Arbeit empfiehlt Windisch ein von ihm erprobtes Ausschüttelungs-Verfahren zur Bestimmung des Käsefettes. Nach diesem Verfahren wird der Käse in Salzsäure (spez. Gew. 1,125), und zwar 1 Teil Käse auf 3 Teile Salzsäure, bei Siedehitze gelöst, die Lösung mit

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XIV, S. 528 ff. 1898.

Tabelle F. Fettbestimmung in Fleisch, Wurst und Käse nach dem neuen Verfahren.

Bezeichnung der Substanz	Fettgehalt nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren ermittelt	Fettgehalt nach dem ergänzten Baur- und Barschallschen Verfahren ermittelt	Fettgehalt nach dem Soxhletschen Extraktionsverfahren ermittelt	
			Nach 6 ständiger Extraktion	Nach 10 ständiger Extraktion
	%	%	%	%
Rindfleisch I	0,67 0,69 0,69	0,69 0,76	—	—
Rindfleisch II	1,10 1,11 1,14	1,15 1,18	—	—
Schweinefleisch	4,19 4,23 4,25	4,25 4,35	—	—
Cervelat-Wurst	47,97 48,20 48,05	48,0 48,4	—	—
Harzer Käse I	1,36 1,32 1,35	1,39 1,43	0,41	0,61
Harzer Käse II	1,48 1,51 1,54	1,56 1,60	0,55	0,68
Romadur-Käse	10,90 10,99 11,05	11,10 11,22	10,0	10,34
Soldiner Käschen I	17,58 17,68 17,57	17,60 17,71	17,0	17,46
Soldiner Käschen II	20,16 20,30 20,32	19,83 20,33	—	—
Schweizer Käse I	29,34 29,42	29,33 29,50	28,27	29,13
Schweizer Käse II	30,20 30,32	30,33 30,47	28,94	29,62
Schweizer Käse III	32,75 32,80	32,60 32,90	—	—

der zweifachen Menge Wasser verdünnt und mit einer gewogenen Menge mit Wasser gesättigten Äthers ausgeschüttelt. In einem gewogenen Anteil des abgeschiedenen Äthers wird das Fett bestimmt und die darin gefundene Fettmenge durch Berechnung auf die gesamte zum Ausschütteln verwendete Äthermenge übertragen.

Gegen die Ausführung dieses Verfahrens sind zwar keine besonderen Einwendungen zu machen, denn es ist ziemlich gleichgültig, ob man das Fett in einem aliquoten Gewichts- oder Raumteile des Äthers bestimmt. Jedoch fällt die angegebene Berechnung des Käsefettgehalts der Substanz zu hoch aus, weil Windisch von der nicht zutreffenden Annahme ausgeht, daß in dem abgeschiedenen und in dem von

der Salzsäure gelösten Äther das Fett gleichmäßig verteilt ist. Daß die mit Äther einmal ausgeschüttelte Substanzlösung trotz ihres Äthergehaltes nur noch weniger als etwa 1 % von der in der Lösung ursprünglich vorhandenen Fettmenge enthält, darüber gibt Tabelle C genügend Aufschluß. Auch die in dieser Richtung mit bekannten Mengen Butterfett nach dem Windischschen Verfahren ausgeführten Versuche ergaben, daß nach seiner Berechnung ein die angewandte Fettmenge um nahezu 5 % übersteigender Fettgehalt gefunden wird. Anstatt der angewandten Menge Butterfett von 0,982 g wurden nach Windischs Berechnung 1,041 g ermittelt.

Von einer Ausdehnung des oben für die Bestimmung des Fettes im Fleisch und Käse gegebenen Verfahrens auf die Bestimmung des Milchfettes, die versuchsweise auch zu guten Ergebnissen führte, ist deshalb Abstand genommen worden, weil das hierfür zurzeit angewandte Verfahren von Röse-Gottlieb mit dem Apparat von Röhrig[1]) sich als sehr zweckmäßig erwiesen hat.

Für die mir bei Ausführung der Versuche geleistete Unterstützung spreche ich Herrn Dr. Köpke, wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte, meinen verbindlichsten Dank aus.

Berlin, Chemisches Laboratorium des Kaiserl. Gesundheitsamtes, Juli 1909.

[1]) Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- und Genußmittel. I, 533 (1905).

Über den Einfluß der Normal- und Immunsera auf die Phagocytose.

Von

Prof. **Dr. F. Neufeld,**

Regierungsrat im Kaiserl. Gesundheitsamte[1]).

Es sind jetzt 25 Jahre verflossen, seit Metschnikoff in seiner berühmten Arbeit über die Hefekrankheit der Daphnien (Virchow's Archiv 1884) zum ersten Male den Kampf zwischen den Infektionserregern und den Zellen des Organismus schilderte und damit die Grundlage zu seiner Phagocytentheorie legte. Wenn diese Theorie trotz der Angriffe, die sie von zahlreichen Seiten erfahren hat und trotz der Fortschritte und Umwälzungen, welche die Bakteriologie und Immunitätslehre seitdem durchgemacht haben, sich bis heute behauptet hat, so spricht das deutlich dafür, daß ihr Grundgedanke ein richtiger war.

Die Phagocytentheorie hat jedoch in dieser Zeit entsprechend der Fülle der neuen Erfahrungen einschneidende Wandlungen durchgemacht; wenn wir den Gegensatz zwischen den Anschauungen, wie sie noch während der lebhaften wissenschaftlichen Kämpfe über Choleraimmunität in den 90er Jahren von den Anhängern Metschnikoffs vertreten wurden, und denjenigen, zu denen sich die Mehrzahl der heutigen Forscher bekennt, kurz charakterisieren wollen, so lautete damals die Parole: Phagocytose oder spezifische Serumwirkung, während es heute heißt: Phagocytose und Serumwirkung.

Die Brücke zwischen den beiden einander einst schroff gegenüberstehenden Anschauungen der „humoralen" und „zellulären" Immunitätstheorie bildet die neu gewonnene Erkenntnis, daß die Phagocytose bei der erworbenen Immunität wohl ausnahmslos, bei der natürlichen Immunität in zahlreichen Fällen erst durch Vermittelung besonderer Serumstoffe eintritt.

Man hat nun die Frage aufgeworfen, ob in diesen Fällen die Leistung des Serums, das die Phagocytose auslöst oder die der Phagocyten, die die Vernichtung der Keime besorgen, höher zu bewerten sei, und die Antwort auf diese Frage ist je nach dem Standpunkte des betreffenden Autors zu der humoralen und zellulären Theorie verschieden ausgefallen. Meines Erachtens führt uns eine solche Fragestellung nicht weiter; man kann doch nur sagen, daß eben beide genannten Faktoren erst zusammen eine Wirkung ausüben und also gleich unentbehrlich sind.

[1]) Nach einem auf dem 16. Internat. medizin. Kongreß in Budapest erstatteten Referat (Erweitert).

Dagegen liegen in einem fundamentalen Punkte die Verhältnisse völlig anders, als Metschnikoff sich ursprünglich vorgestellt hat: Die Spezifität ruht bei diesen Immunitätsvorgängen genau so wie bei den bakteriolytischen Prozessen, ausschließlich beim Serum; auf gelöste Serumstoffe, nicht auf ein Wahlvermögen der Phagocyten, ist das elektive Verhalten des Körpers gegenüber verschiedenen Mikroorganismen zurückzuführen.

Die Entdeckung der phagocytoseerregenden Serumstoffe verdanken wir dem belgischen Forscher Denys, der in Gemeinschaft mit seinen Schülern Leclef, Marchand und Mennes die Verhältnisse der Streptokokken- und Pneumokokken-Immunität klarlegte. Denys und Leclef zeigten im Jahre 1895, daß überlebende Leukocyten, die sie aus künstlich erzeugten Exsudaten von Kaninchen entnahmen, die Fähigkeit besitzen, im Reagenzglase stundenlang in der gleichen Weise wie im Tierkörper Phagocytose auszuüben, und daß die gesamten Vorgänge in vitro dabei eine überraschende Parallelität mit denen in vivo zeigen. Ihre klassischen Versuche ergaben, daß nicht, wie Metschnikoff gelehrt hatte, die Leukocyten, sondern das Serum bei der Immunisierung eine Veränderung erfährt; nicht die Leukocyten werden zur Abwehr der Infektionserreger „erzogen", sondern im Serum bildet sich ein Stoff neu, der die Phagocytose hervorruft. Weiterhin stellte Denys mit seinen Schülern drei fundamentale Tatsachen fest: die Parallelität der phagocytären Vorgänge in vivo und in vitro, die intrazelluläre Degeneration der gefressenen Bakterien und den prinzipiellen Unterschied im Verhalten virulenter und avirulenter Stämme gegenüber den Phagocyten. Durch die Forschungen Denys' war der sichere Nachweis geliefert, daß die Immunsera spezifische phagocytosebefördernde Stoffe enthalten und die Möglichkeit einer näheren Analyse dieser Stoffe durch eine neue, sehr fruchtbare Technik gegeben.

Die grundlegenden Arbeiten Denys' fanden lange Zeit hindurch nicht die verdiente Beachtung. Soviel mir bekannt, hat zunächst nur Bordet eine Nachprüfung angestellt, ohne jedoch die Resultate Denys' bestätigen zu können; er teilt in seiner Anmerkung zu seiner in den Ann. Pasteur 1897 erschienenen Arbeit über die Streptokokken-Immunität kurz mit, daß er bei der Denysschen Versuchsordnung keinen Unterschied zwischen den Röhrchen mit Immunserum und denen mit Normalserum habe feststellen können. Erst seit 1904 sind dann die Arbeiten Denys zur Grundlage weiterer Forschungen gemacht worden.

Eine schnellere Anerkennung war den Untersuchungen beschieden, die von den Beobachtungen Leishmans (1902) ihren Ausgangspunkt nahmen. Im Gegensatz zu Denys benutzte Leishman die Leukocyten des zirkulierenden menschlichen Blutes und stellte den Grad der Phagocytose durch Zählung der durchschnittlich von einem Leukocyten aufgenommenen Keime fest. Leishman fand, daß die Phagocytose im Blute solcher Patienten, welche mit Injektionen abgetöteter Staphylokokken behandelt wurden, eine Steigerung erfährt, und gab damit den Anstoß zu den ausgedehnten Untersuchungen von Wright und seinen Schülern, welche die Verwertung dieser Serumstoffe für die klinische Praxis der Infektionskrankheiten bezweckten. Daneben verdanken wir aber Wright einen äußerst wichtigen Fortschritt, nämlich die Fest-

stellung, daß nicht nur spezifisches Serum, sondern auch Normalserum solche phagocytosefördenden Stoffe enthält.

Die weitere Untersuchung dieser Stoffe der spezifischen und normalen Sera hat zunächst zu einer allgemeinen Übereinstimmung darüber geführt, daß dieselben nicht auf die Leukocyten, sondern auf die Bakterien wirken. Es findet also eine Veränderung der Bakterien, nicht aber eine Stimulierung der Phagocyten statt, wie eine solche von Metschnikoff und seinen Schülern für eine Reihe von Infektionskrankheiten, so für die Infektionen durch Bakterien der Paratyphusgruppe, Rotlauf und Streptokokken bis zum Jahre 1904 behauptet worden war.

Leukostimulantien.

Damit ist nicht gesagt, daß nicht auch durch gewisse Stoffe ein stimulierender Einfluß auf die Phagocyten ausgeübt werden kann, vielmehr ist die Existenz solcher von Neißer als Leukostimulantien bezeichneter Stoffe jetzt allgemein anerkannt. So üben nach Manwaring und Ruh manche sonst leukocytenschädigende Stoffe, wie z. B. Antiseptika in ganz schwacher Konzentration eine anregende Wirkung aus; Hamburger und Hekma fanden für Chlorcalcium die gleiche Wirkung und wiesen auf die Möglichkeit einer praktischen Verwendung derselben hin, Neißer und Guerrini sowie Bechhold sahen Jodkalium, Pepton, Chinin, Nukleinsäure und andere Stoffe im gleichen Sinne wirksam. Besonderes Interesse hat die stimulierende Wirkung der Nukleinverbindungen gefunden; auf diese ist auch die Wirkung des durch Behandlung von Pferden mit großen Mengen Hefe gewonnenen Deutschmann-Serums zurückgeführt worden. Sollte das zutreffen, so liegt allerdings die Frage nahe, ob man die Nukleine nicht auf einfacherem Wege einverleiben könnte. Schon vorher ist von englischen Autoren (Huggard und Moorland, Bulloch) eine Erhöhung des opsonischen Inhalts bei tuberkulösen Patienten, die mit Hefe oder mit Nuklein-Injektionen behandelt worden waren, festgestellt worden. Vorläufig kommt diesen Untersuchungen wohl nur theoretisches Interesse zu, wenigstens sind überzeugende Erfahrungen, aus denen die praktische Verwendbarkeit solcher Stimulantien hervorgeht, weder aus der ärztlichen Praxis noch aus Tierversuchen bekannt geworden.

In allen diesen Fällen handelt es sich natürlich nicht um einen der Antikörperwirkung vergleichbaren Vorgang, sondern um eine allgemeine, nicht spezifische Anregung der Zelltätigkeit.

Einteilung der phagocytären Serumstoffe.

Die phagocytären Serumstoffe sind zweckmäßig in zwei große Klassen zu teilen, von denen die ersten von Denys entdeckten als Bakteriotropine, die zweiten nach Wright als Opsonine zu bezeichnen sind. Die wesentliche Differenz zwischen beiden liegt nicht darin, daß die einen Stoffe im Normal-, die anderen im Immunserum vorkommen, auch nicht in ihrer Thermoresistenz bezw. Labilität, sondern darin, daß die erstgenannten einfach gebaute Stoffe sind, die ohne Anwesenheit, die zweiten dagegen komplexe Stoffe, die ausschließlich bei Mitwirkung von Komplement wirken.

Diese Trennung scheint mir nicht nur theoretisch, sondern auch praktisch deswegen sehr wichtig, weil das Komplement offenbar nur an einzelnen Stellen des Organismus, wie im zirkulierenden Blut oder in den serösen Höhlen reichlich vorhanden ist; um so wichtiger dürfte es für den Organismus sein, über einen Stoff zur Abwehr der Bakterien zu verfügen, der im Gegensatz zu Lysinen und Opsoninen der Mitwirkung eines Komplements nicht bedarf.

Zur Nomenklatur. Der Name Tropin (Bakteriotropin, Cytotropin) anstatt der zuerst von mir gebrauchten Bezeichnung „bakteriotrope Substanz" hat sich neuerdings bei den deutschen Autoren eingebürgert; seine allgemeine Einführung dürfte zur Vermeidung der Unklarheiten auf diesem Gebiete beitragen, die sich fortdauernd daraus ergeben, daß die Bezeichnung „Immunopsonine" bald als gleichbedeutend mit Tropin, bald wieder für die komplexen Phagocytose befördernden Immunstoffe gebraucht wird. Betreffs der Begründung für die Trennung dieser Stoffe sei auch auf die lichtvollen Ausführungen v. Grubers auf der Mikrobiologenversammlung in Wien verwiesen.

Im Zusammenhange hiermit sehe ich mich genötigt, auf eine Äußerung Wrights einzugehen, die sich in seinem kürzlich in deutscher Ausgabe erschienenen Buche „Studien über Immunisierung" findet. Wright hebt hervor, daß der Ausdruck „bakteriotrop" zuerst von ihm im Anschluß an Ehrlichs Wortbildungen „neurotrop" usw. gelegentlich in einem Artikel im Lancet vom 23. Dezember 1899 gebraucht worden sei. Dies ist richtig, jedoch habe ich diesen Artikel nicht gekannt und nicht gewußt, daß das Wort „bakteriotrop" und ähnliche Wortbildungen schon gebraucht worden waren, sonst hätte ich eine andere Bezeichnung gesucht. Nun spricht aber Wright mehrfach davon, daß ich und Rimpau uns diese Bezeichnung „aneignen wollen" und weist die von uns benutzte Nomenklatur als „unrechtmäßig" zurück. Mir scheint Wrights Standpunkt abgesehen von der verletzenden Form, in der er ihn vertritt, mit den herrschenden wissenschaftlichen Gepflogenheiten nicht in Einklang zu sein. Es ist bekanntlich auch sonst schon vorgekommen und bei der Fülle der fortwährend auftauchenden neuen Bezeichnungen gerade auf unserem Gebiete sehr begreiflich, daß ein von einem Autor angewandter Ausdruck sich nicht einbürgert und in Vergessenheit gerät, und dann später in einem ganz anderen Sinne gebraucht wird. Ich erinnere an den Ausdruck „Lysine". Dieser ist von Kruse (Flügges Mikroorganismen, 3. Aufl., I, S. 409) eingeführt worden, und zwar annähernd im Sinne des jetzigen Ausdrucks „Aggressine." Später hat man die Bezeichnung Lysine für die hämolytischen und bakteriolytischen Serumstoffe angewendet, und diese hat sich bekanntlich allgemein eingebürgert. Kruse hat daher später das neue Wort „Agressin" gebildet, und es ist mir nicht bekannt, daß er (oder ein anderer Autor bei ähnlicher Gelegenheit) gegen die anderweitige Verwendung „seines" Wortes protestiert hätte, geschweige denn in einer Form, wie es Wright getan hat.

In einem gewissen Gegensatz hierzu steht Wrights eigenes Verhalten da, wo es sich nicht darum handelt, ein fremdes Wort, sondern fremde Entdeckungen anzuerkennen. Wright hat bekanntlich von Anfang an unterlassen, den großen Anteil zu erwähnen, den Denys an der neueren Phagocytoseforschung hat, und er findet auch in seinem neuen über 500 Seiten starken Buche keine Gelegenheit die Entdeckungen seines Vorgängers zu würdigen.

Cytotropine.

Nicht nur gegen Bakterien, sondern auch gegen tierische Zellen lassen sich spezifische Tropine gewinnen. Von diesen sind die gegen rote Blutkörperchen gerichteten Stoffe, die Hämotropine vielfach untersucht worden.

Dieselben entstehen im Tierkörper nach Injektion von fremden Blutkörperchen, sind aber auch beim Menschen beobachtet worden, und ihr Vorkommen dürfte daher auch für den Kliniker nicht ohne Interesse sein. So ist oft bei gewissen Anämien und im Verlaufe von Infektionskrankheiten Aufnahme der roten Blutkörperchen durch die Leukocyten des zirkulierenden Blutes, sowie durch Endothel- oder Organzellen be-

obachtet worden. Solche Fälle sahen bei perniziöser und lymphatischer Anämie Rowley, Kämmerer und Meyer, Ehrlich u. a., bei Infektionskrankheiten Hektoen, Mallory u. a.; eine äußerst starke Phagocytose der Blutkörperchen nicht nur seitens der Kapillarendothelzellen, sondern auch der Leber-, Pankreas- und Nierenepithelien fand Rössle bei einer Sepsis. Natürlich darf man hier nicht ohne weiteres das Vorhandensein von Tropinen annehmen; doch sind solche in der Tat durch Reagenzglasversuche bei paroxysmaler Hämoglobinurie (Eason, Kämmerer und Meyer, Dudgeon, vergl. auch Simon, Melvin und Roche) bei perniziöser Anämie (Rowley) reichlich nachgewiesen worden; ebenso von Hektoen, Davis, Dudgeon in einigen Fällen von Infektionskrankheiten. Es ist daher wohl möglich, daß Autohämotropine bei manchen Krankheitszuständen eine wichtige Rolle spielen.

Auch gegen Spermatozoen lassen sich phagocytosebefördernde Antikörper, die, wie ich gesehen habe, auch in vitro wirksam sind, erzeugen. Nähere Untersuchungen über ihre Wirkungsweise stehen noch aus.

Deutlich phagocytoseerregende Sera gegen Leukocyten und gegen Leberzellen zu gewinnen ist mir bisher in einigen orientierenden Versuchen nicht gelungen. Möglicherweise liegt das jedoch nur daran, daß die Immunisierung nicht hoch genug getrieben war oder an unzweckmäßiger Wahl der Tierart (Meerschweinchenzellen bez. Organverreibungen wurden teils in einfacher Aufschwemmung, teils nach Auflösung mit Natrium taurocholicum Kaninchen intravenös eingespritzt).

Antikörper gegen die Membran von Emulsionströpfchen.

Das Vorkommen der Tropine ist jedoch ein noch allgemeineres: So lassen sich durch Behandlung von Kaninchen mit Milch und mit Hühnereiweiß Sera gewinnen, welche eine spezifische Wirkung auf die Phagocytose von Milchkügelchen bezw. von mit Hühnereiweiß emulgierten Fettröpfchen ausüben (Neufeld und Händel). In diesem Falle richten sich also die Antikörper gegen eine umhüllende Membran („Haptogenmembran“).

Es wäre wohl von Interesse, diese Antikörper näher zu studieren, insbesondere mit Rücksicht auf die von vielen Autoren vertretene Anschauung, daß der Angriffspunkt antibakterieller Serumstoffe in dem Ektoplasma der Bakterien zu suchen sei. So nimmt v. Gruber an, daß die chemischen Vorgänge bei der Vorbereitung der Bakterien zur Phagocytose ebenso wie bei der Agglutination sich, da keinerlei Schädigung der Zellen auftritt, ausschließlich in der Hüllsubstanz abspielen, und Eisenberg hat die gleiche Annahme für alle Antikörper ausgesprochen.

Vorkommen und Spezifität der Tropine.

In einigen Fällen enthalten Immunsera, soweit bekannt, ausschließlich Tropine, in anderen Fällen jedoch daneben bakterizide Ambozeptoren; hier wird je nach dem Gehalt des Serums an beiden Antikörpern und je nach den lokalen Bedingungen der Infektion die eine oder die andere Komponente in den Vordergrund treten. Wenn z. B. beim Pfeifferschen Versuch mit Cholera die lytische Serumwirkung überwiegt, so liegt das an der besonderen Versuchsanordnung, daraus ist aber nicht zu folgern,

daß Tropine bei der Choleraimmunität überhaupt eine geringe Rolle spielen. Daß in vielen Immunsera außerdem noch ein dritter Immunstoff, nämlich Immunopsonin enthalten ist, wird weiter unten zu erwähnen sein.

Im allgemeinen darf man wohl annehmen, daß das Vorkommen der Tropine mindestens ebenso allgemein ist, wie das der lytischen Ambozeptoren; sie haben sich in den meisten der untersuchten Immunsera nachweisen lassen, so in den Sera gegen Streptokokken, Pneumokokken, Typhus, Paratyphus, Cholera und choleraähnlicher Vibrionen, Staphylokokken, Tuberkelbazillen, Meningokokken, sowie gegen die verschiedenen Arten von Ruhrbazillen.

Bezüglich der Spezifität verhalten sich die Tropine ebenso wie die anderen antibakteriellen Serumstoffe. Sie sind im allgemeinen streng spezifisch, so daß z. B. die Choleratropine nur auf Choleravibrionen (einschließlich der El Tor-Vibrionen), dagegen nicht z. B. auf Vibrio Metschnikoff oder Vibrio Elwers wirken und umgekehrt, dagegen findet in manchen Fällen ebenso wie bei den Agglutininen und anderen Antikörpern ein Übergreifen statt („Gruppenwirkungen"). So enthält Paratyphus-Serum Tropin nicht nur für den eigenen Stamm, sondern auch für alle Angehörigen der sog. Hog-Choleragruppe, ja auch oft ziemlich reichlich Tropin für Typhusbazillen. Auch bei Ruhr fand Händel ein gewisses Übergreifen der Tropine zwischen den Typen Shiga, Flexner und Y.

Methodik der Tropinuntersuchung.

Was die Methodik der Tropinuntersuchung betrifft, so darf als die einzig exakte Methode die Verdünnungsmethode bezeichnet werden, bei welcher inaktives Serum in abgestuften Mengen etwa zwischen 0,03 — 0,0001 mit gewaschenen Leukocyten und Bakterien bei 37° zusammengehalten wird. Hierbei sind in Bezug auf die Versuchsdauer und auf die Dichte der Leukocyten- und Bakterienaufschwemmungen optimale Bedingungen ausfindig zu machen. Die Stärke eines Serums wird durch Feststellung der Grenzverdünnung bestimmt, in welcher noch eine im Vergleiche mit einer Kochsalzkontrolle zweifellose spezifische Phagocytose stattfindet. Einige Autoren bedienen sich dabei der Zählung nach Leishmann; soweit darüber ausführliche Protokolle vorliegen (z. B. bei Meakins) scheint die Differenz zwischen der letzten noch wirksamen und der ersten unwirksamen Serumverdünnung meist so groß zu sein, daß sie einem einigermaßen geübten Untersucher auch ohne die zeitraubende Zählung nicht entgehen würde. In der Regel wird man jedenfalls mit einer bloßen Schätzung auskommen.

Ganz unzuverlässig, wenigstens für alle stärkeren Immunsera, ist die Benutzung konzentrierten Serums. Sie gibt, wie die Versuche von Neisser und Guerrini u. a. lehren, oft falsche Resultate: ein Immunserum kann bei der Untersuchung nach Wrights Methode den gleichen oder gar einen geringeren Index ergeben, wie ein normales Kontrollserum, dabei aber, wie die Untersuchung nach der Verdünnungsmethode zeigt, reich an Tropin sein. Welch' sonderbare Resultate man mit konzentriertem karbolhaltigem Serum erhalten kann, zeigen die jüngsten Streptokokken-Phagocytoseversuche von Sauerbeck.

Nur für ganz schwach tropinhaltige Sera, wie für Sera von tuberkulösen Patienten, soll nach Böhme die Untersuchung konzentrierten Serums (dann aber ohne Karbol und mit Leukocyten derselben Tierart!) nötig sein, da solche Sera schon bei der Verdünnung 1 : 10 unwirksam werden.

Tuberkulose-Tropine.

Daß sich aber auch gegen Tuberkulose stark tropinhaltige Sera gewinnen lassen, geht aus neuen Versuchen von Meakins hervor, welcher bei vorbehandelten Kaninchen Sera gewann, die noch bis zu einer Verdünnung von 1 : 1500 deutlich phagocytosebefördernd wirkten. Obwohl die Phagocytose, wohl etwas voreilig, vielfach als Ursache der Tuberkulose-Immunität und anscheinend sogar als einzige Ursache in Anspruch genommen worden ist, so ist bisher merkwürdigerweise niemals der so nahe liegende und, wie mir scheint, äußerst wichtige Versuch gemacht worden, das Serum von Tieren, bei welchen eine hochgradige Immunität exakt nachgewiesen wurde, z. B. von Rindern, die nach Immunisierung mit menschlichen Tuberkelbazillen eine Prüfung mit virulenter Perlsucht überstanden hatten, in Bezug auf den Gehalt an Tropin (und Immunopsonin) gegen virulente Perlsuchtbazillen zu prüfen.

Wertbestimmung des Genickstarreheilserums.

Eine praktische Verwertung findet die Untersuchung auf Tropine bei der Titrierung des Genickstarreserums. Eine Methode hierfür ist von mir vorgeschlagen und ihre Brauchbarkeit von Kraus und Bächer und von Flexners Mitarbeiter Jobling bestätigt worden. Letzterer hat die Tropinbestimmung des Genickstarreserums mit den anderen zur Wertbestimmung angegebenen Methoden verglichen und hält sie für die einzig brauchbare; er schlägt vor, nur solche Sera zu Heilzwecken zu verwenden, welche bis zu einer Verdünnung von 1 : 5000 herab im Reagenzglasversuch sich als tropinhaltig erweisen. (Vergl. auch die Diskussion bei der Wiener Mikrobiologenversammlung. Zentralbl. f. Bakteriol. Beilage zu Band 44, Referate, S. 40 f.)

Sind Tropine und Amboceptoren identisch?

Bezüglich der Frage, ob die Tropine Stoffe eigener Art oder mit den Ambozeptoren identisch sind, ist bisher keine völlige Übereinstimmung erzielt worden, doch sprechen sich wohl die meisten Forscher, so neuerdings v. Gruber, für eine Selbstständigkeit der Tropine aus. Mir scheinen dafür folgende Gründe zu sprechen.

1. In einzelnen Fällen lassen sich in Immunsera nur Tropine, aber keine Ambozeptoren nachweisen (Streptokokken-, Pneumokokken-Serum, manche Fälle von Blutkörperchen-Antisera). Auch bei den von Hüne und mir untersuchten Paratyphussera fanden wir keine lytischen Ambozeptoren, doch hat Pfeiffers Schüler Bezzola kürzlich in einem Paratyphusserum durch eine besondere, auf den Nachweis minimaler Mengen von Lysinen berechnete Methode Spuren davon nachweisen können.

Der kürzlich von Sauerbeck versuchte Nachweis, daß die phagocytäre Wirkung des Streptokokken- und Diphtherieserums auf Lysinen beruht, ist wohl als mißglückt zu betrachten; für Diphtheriebazillen ist seine auf das Ergebnis eines Versuches

gestützte Annahme von Ohkubo widerlegt worden, und für die Streptokokkenversuche gibt der Autor selbst zu, daß die Keimverminderung auch durch Agglutination vorgetäuscht sein könne. Vielleicht darf man auch an eine Wirkung des Karbolgehaltes denken.

In anderen Fällen ist umgekehrt beobachtet worden, daß ausschließlich Lysine, aber keine Tropine bei der Immunisierung auftraten, so im Immunserum gegen Hühnerspirochaeten (Neufeld und v. Prowazek) und bei Behandlung von Kaninchen mit Meerschweinchen-Blutkörperchen (Neufeld mit Töpfer und Hüne und andere Autoren). Dagegen hat Savtchenko bei der letztgenannten Kombination auch Tropine entstehen sehen. Es ist wohl kaum nötig, hervorzuheben, daß ein solcher Befund in diesem ebenso wie in analogen Fällen ohne Einfluß auf die in Rede stehende Frage der Trennung zweier Antikörper ist. Hierfür kommt es nicht darauf an, ob sich überhaupt gegen gewisse Bazillen oder Kokken oder gegen eine bestimmte Art von Blutkörperchen nur Phagocytose befördernde bezw. nur lytische Antikörper erzeugen lassen, sondern ausschließlich darauf, daß in gewissen Serumproben die eine Art von Antikörpern vorhanden ist, während die andere Art fehlt.

Von den erwähnten Fällen erscheinen, wie auch v. Gruber hervorhebt, die auf Erythrocyten bezüglichen insofern noch beweisender als etwa die Beobachtungen an Streptokokken, da man im letzteren Falle den Einwand erhoben hat, daß es sich um Zellen handelt, die überhaupt einer lytischen Wirkung nicht oder nur in äußerst geringem Maße zugänglich sind. Zum Beweise sind ferner die Beobachtungen heranzuziehen, wo es gelang, durch Absättigung mit Blutkörperchen oder durch Erhitzen unter bestimmten Bedingungen aus Sera, die gleichzeitig Hämolysin und Hämotropin enthielten, den einen Antikörper isoliert zu entfernen (Neufeld und Bickel, Hektoen).

2. Wo gleichzeitig Tropine und Ambozeptoren auftreten, geht der Gehalt des Serums an beiden Stoffen oft nicht parallel, wie Hüne und ich für Typhus-, Bächer und Amako für Cholera-, Barrat, Hectoen, Keith, ich mit Töpfer und Bickel für Antiblutkörperchen-Sera fanden. Am beweisendsten erscheinen die Versuche an Erythrozyten. Wenn Bezzola kürzlich bei seinen Versuchen keine erheblichen Differenzen zwischen dem Lysin- und Tropingehalt zu finden vermochte, so glaube ich, daß hier nicht die negativen, sondern die positiven Befunde entscheidend sind; natürlich geht ja der Gehalt an beiden Antikörpern, ebenso wie der an Agglutinin und Lysin, sehr oft parallel. Der Einwand Bezzolas, daß in unseren früheren Versuchen Hemmungen, wie sie bei Verwendung konzentrierten Serums, nach Bezzolas Angabe insbesondere bei älteren Sera, häufig auftreten, auf das Resultat Einfluß gehabt haben, ist deshalb nicht zutreffend, weil gerade bei unseren entscheidenden Versuchen frische Sera zur Verwendung kamen, und weil wir uns niemals auf die Beobachtung der konzentrierten Serumverdünnungen beschränkt, sondern stets größere Versuchsreihen mit fallenden Serummengen angesetzt haben. Nach meinen Erfahrungen ist man, wenn man abgestufte Serumverdünnungen benutzt, bei nur einigermaßen hochwertigen Sera einer Täuschung durch solche Hemmungen nicht ausgesetzt. Seither habe ich gelegentlich wiederum Differenzen zwischen hämolytischer und hämotroper Serumwirkung und zwar bei Benutzung ganz frischer Serumproben erheben können.

v. Liebermann und v. Fenevessy haben kürzlich gefunden, daß in die durch Abspaltung mit Säure aus sensibilisierten Blutkörperchen erhaltenen Extrakte gleichzeitig Hämotropine und Lysine (übrigens auch Agglutinine) übergehen. Hieraus auch nur einen Wahrscheinlichkeitsschluß auf die Identität der erstgenannten beiden Stoffe zu ziehen, scheint mir nicht angängig.

3. Am wichtigsten scheint es mir aber, daß die Tropine ohne Beteiligung von Komplement wirken, während die Ambozeptoren auch in größtem Überschuß bei Fehlen von Komplement absolut keine Wirkung haben. In dieser Beziehung gibt uns der Reagensglasversuch ein unzweideutiges Resultat, und wir dürfen dasselbe zweifellos auf die Verhältnisse im Tierkörper übertragen, da niemand annehmen wird, daß die Phagocyten im Reagensglase gesteigerte Fähigkeiten gegenüber ihrem Verhalten unter natürlichen Bedingungen im Organismus entfalten.

Wollte man aber auch eine Identität von Tropinen und Ambozeptoren annehmen und somit den Ambozeptoren zwei völlig voneinander verschiedene Funktionen zuschreiben, nämlich erstens mit Komplement zusammen Bakterien und Zellen aufzulösen, und zweitens ohne Komplement Phagocytose zu bewirken, so würde damit die Phagocytose dennoch als eine völlig gleichberechtigte Immunitätsreaktion neben der Lysis dastehen; jedenfalls könnte nicht, wie das früher von Flügge, Pfeiffer und neuerdings noch von v. Baumgarten geschehen ist, von einer „Totengräberrolle" der Phagocyten die Rede sein, da ja die Bakterien ohne Komplement durch den Ambozeptor absolut nicht geschädigt werden. Die Bedeutung der Phagocytose würde also auch bei dieser meines Erachtens wenig wahrscheinlichen Annahme in keiner Weise herabgesetzt sein.

Die intrazelluläre Abtötung der Bakterien.

Es ist schon vielfach hervorgehoben worden, daß die Phagocytose nur dann für die Immunität von Bedeutung ist, wenn die gefressenen Keime auch abgetötet werden und ich habe dabei u. a. auf die Staphylokokken hingewiesen, bei denen eine solche Abtötung nicht bewiesen sei. v. Gruber und v. Baumgarten sind noch weiter gegangen und haben eine lebhafte Vermehrung der Staphylokokken innerhalb der Leukocyten angenommen. In jüngster Zeit hat aber Weils Mitarbeiter Toyusumi Versuche mitgeteilt, wonach die Leukocyten befähigt sind, in vivo sowohl wie in vitro Staphylokokken abzutöten.

Gleichzeitig hat Weil mit seinen Mitarbeitern eine Reihe von Untersuchungen veröffentlicht, die teils mit lebenden Leukocyten, teils mit Leukocytenextrakten angestellt sind, wobei die abtötende Wirkung der Leukocyten hauptsächlich auf Grund von Plattenversuchen festgestellt wurde. So interessante Aufschlüsse derartige Versuche in gewissen Fällen zu geben vermögen, so können sie meiner Ansicht nach keinesfalls die direkte mikroskopische Beobachtung ersetzen, die uns in den meisten Fällen, wie Weil selbst in früheren Arbeiten gezeigt hat, über das Schicksal der im Tierkörper und im Reagensglase phagocytierten Keime den eindeutigsten Auf-

schluß gibt. Sie zeigt uns entgegen der von Wright und Douglas vertretenen Ansicht (und im Gegensatz zu den in Tafel I, Figur 2 und 4 des Wrightschen Werkes „Studien über Immunität“ wiedergegebenen Abbildungen; vergl. auch ebenda S. 279 die Erklärung Wrights, daß er über die intrazelluläre Auflösung der Bakterien nichts aussagen könne, da er sich mit dieser Frage noch nicht genügend beschäftigt habe) bei Typhus-, Paratyphus-, Cholera- u. a. Bakterien eine weitgehende Degeneration, die zum großen Teil, aber nicht bei allen Exemplaren unter dem Bilde der Granulabildung verläuft. Nun können wir uns bei Cholerabakterien, wo es leicht ist, ähnliche Degenerationsstadien durch Lyse in vitro zu erhalten, durch Züchtungsversuche überzeugen, daß Granula nicht mehr entwicklungsfähig sind; aus den kürzlich von mir (in der Festschrift für Brieger) veröffentlichten Versuchen geht überdies hervor, daß diese intrazellulären Granula (bei Typhus- und Cholerabazillen) ebenso wie die extrazellulär gebildeten durch taurocholsaures Natrium momentan gelöst werden, daß also offenbar die Bakterienhüllschicht völlig zerstört ist. Bei längerer Beobachtung der Phagocytose sieht man dann aufs deutlichste wie die Bakterienauflösung fortschreitet, die Reste nehmen immer schwächere Färbung an, werden schattenhafter und undeutlicher und schließlich völlig unsichtbar. Meiner Erfahrung nach geht diese Verdauung in den aus dem zirkulierenden Blut entnommenen menschlichen Leukocyten sowie in Leukocyten aus Kaninchenexsudaten erheblich schneller vor sich, als in den Exsudatleukocyten des Meerschweinchens. Die Beobachtung, daß die gefressenen Bakterien vollkommen verschwinden, ist bereits früher von zahlreichen Untersuchern bei einer Reihe von Bakterienarten gemacht worden, und es ist eine alltägliche Erfahrung bei Opsoninversuchen, daß wenn man in Parallelversuchen den opsonischen Index z. B. nach 10 Minuten und dann wieder nach $^1/_2$ Stunde bestimmt, die letzteren Präparate oft eine um vieles kleinere Durchschnittszahl zeigen, weil eben ein großer Teil der Keime inzwischen aufgelöst worden ist. Dies ist schon von Dean hervorgehoben worden; Beispiele finden sich u. a. in den Tabellen von Fornet und Porter (Zentralbl. f. Bakt. 48, S. 463), wo der Index für Paratyphusbazillen nach $^1/_4$ Stunde 1,5 bis 3,1, nach $1\,^1/_2$ Stunden 0,0 bis 0,26 betrug. Das völlige Verschwinden der gefressenen Bakterien läßt sich, wie ich vielfach festgestellt habe, auch dann beobachten, wenn der Versuch mit inaktiviertem Serum gemacht wird.

Um zu verstehen, weshalb der Plattenversuch in diesen Fällen im allgemeinen keine Ergebnisse liefert, braucht man sich nur der natürlichen Grenzen zu erinnern, die der Phagocytoseversuch in vitro hat: wenn dabei die Leukocyten auch ihr Freß- und Verdauungsvermögen in genügendem Maße (obwohl sicherlich nicht vollständig) behalten, so verlieren sie doch völlig ihren ebenso wichtigen Charakter als Wanderzellen; sie kleben dem Glase an, senken sich zu Boden und darüber wuchern, wie jedes Präparat zeigt, die Bakterien ungestört. Schon aus diesem Grunde erscheinen mir die negativen Plattenversuche Werbitzkis, die unter besonders ungeeigneten Bedingungen, vor allem mit sehr großen Mengen von Flüssigkeit angestellt wurden, nicht beweisend. Gelegentlich habe ich, wie ich früher mitgeteilt habe, für Cholerabazillen auch im Plattenversuch eine starke Abtötung nachweisen können, meist erhält man jedoch bei gewöhnlicher Versuchsanordnung kein deutliches

Resultat. Weil hat nun, indem er relativ sehr große Mengen von Leukocyten in wenig Flüssigkeit aufschwemmte, eine ganz geringe Einsaat machte, die Röhrchen öfters schüttelte, und erst nach 6 Stunden Platten goß, regelmäßig eine Abtötung feststellen können. Auch dann erhält man offenbar nur ein schwaches Abbild von der wirklichen Leistungsfähigkeit der Leukocyten; hiermit ist wohl auch die zunächst überraschende Tatsache zu erklären, daß bei solchen Versuchen der Zusatz von bakteriotropem Serum gar keinen Einfluß hatte. Bei Cholerakulturen findet meiner Erfahrung nach stets eine beträchtliche Spontanphagocytose statt, so daß vermutlich bei so minimaler Einsaat und langer Versuchsdauer die Röhrchen mit und ohne Serum in bezug auf Phagocytose keinen Unterschied zeigen werden. Natürlich wird man nicht etwa auf Grund solcher Versuche der bakteriotropen Serumwirkung den Einfluß auf die Vernichtung von Infektionskeimen absprechen dürfen, der durch zahlreiche Erfahrungen im Tierkörper und, bei geeigneter Versuchsanordnung, auch im Reagensglase über jeden Zweifel sicher gestellt ist. Auf die wichtigen Beobachtungen Weils und seiner Mitarbeiter über „aphagocyde Leukocytenwirkung" wird noch zurückzukommen sein.

Chemismus der intrazellulären Auflösung.

Daß die intrazelluläre „Verdauung" der Bakterien bezw. Zellen ohne Mitwirkung etwa aus dem Serum miteingeführter Stoffe vor sich geht, ist am besten ersichtlich an Streptokokken, Pneumokokken, Paratyphusbazillen[1]), die durch Serum überhaupt nicht gelöst werden, sowie an Blutkörperchen, bei welchen sich die Auflösung im Serum und in den Phagocyten in einer völlig verschiedenen Form vollzieht. Die eigenartigen Veränderungen, welche die Blutkörperchen innerhalb der Phagocyten erfahren, sind von Metschnikoff, v. Gruber und mir, sowie neuerdings durch Experimente in vitro von Kämmerer und Meyer untersucht worden.

Auf den Chemismus der intrazellulären Bakterienauflösung soll hier nicht näher eingegangen werden, es sei jedoch betont, daß der Standpunkt, als ob dieselbe durch Wirkung von Ambozeptor und Komplement erfolge, jetzt wohl nirgends mehr, auch nicht in den letzten Veröffentlichungen aus dem Metschnikoffschen Laboratorium (Levaditi und Rosenbaum, Korschun) vertreten wird; auch die neuen Versuche von Nunokawa lassen die Verschiedenheit der Leukocytenstoffe vom Komplement erkennen. Dies ist deswegen von Wichtigkeit, weil die entgegengesetzte Annahme Metschnikoffs der eigentliche Anlaß dafür gewesen ist, die phagocytoseerregenden Stoffe der spezifischen Sera mit den Ambozeptoren zu identifizieren. Bekanntlich sollte ja das Pfeiffersche Phänomen nur durch Komplementabgabe infolge einer

---

[1]) Auch hier ist wiederum hervorzuheben, daß das, was für einen Bakterienstamm festgestellt ist, nicht ohne weiteres für alle Stämme derselben Art gilt. Insbesondere hat sich ergeben, daß verschiedene Stämme der Paratyphusgruppe sich in Bezug auf die Immunitätsreaktionen sehr verschieden verhalten; kürzlich hat Toyosumi gefunden, daß ein Hogcholerastamm im Gegensatz zu den von Töpfer und Jaffe, Hüne und mir und Bezzola untersuchten Stämmen dieser Gruppe beim Plattenversuch in vitro außerordentlich stark vom Serum abgetötet wurde, dagegen angeblich nicht innerhalb der Phagocyten. Auch Fornet und Porter sahen bei einem Paratyphusstamme starke Lysis durch Normalserum.

Phagolyse zustande kommen, in der Regel aber die Vibriolyse durch Ambozeptor und Komplement intrazellulär erfolgen.

Wenn man gewohnt ist, von der intrazellulären Auflösung der Bakterien als von einer „Verdauung" zu sprechen, so ist hervorzuheben, daß es noch keineswegs sicher ist, ob die Verarbeitung der gefressenen Elemente im chemischen Sinne ein echter Verdauungsprozeß ist; zum mindesten scheint es, daß nicht ausschließlich verdauungsartige Vorgänge dabei eine Rolle spielen. Neuere Untersuchungen von Jochmann, Kantorowicz lassen es möglich erscheinen, daß hier zwei ganz verschiedene Prozesse in Betracht kommen, erstens die Abtötung der Keime bezw. nach Kantorowicz die Zerstörung eines Antiferments, welches lebende Bakterien gegen Verdauung schützt und zweitens der eigentliche Auflösungsvorgang. Nur der letztere würde hiernach auf einem proteolytischen Fermente beruhen.

Über das Vorkommen von Tropinen im Normalserum.

Über das Vorkommen von Tropinen im Normalserum liegen nicht sehr viele Beobachtungen vor. Ich selbst bin zwar schon im Beginne meiner Phagocytosestudien auf zweifellose Phagocytosebegünstigung durch erhitztes Normalserum gestoßen und habe in Gemeinschaft mit Töpfer ebenso wie Barrat u. a. für Blutkörperchen, ferner in Gemeinschaft mit Hüne für Staphylokokken und Mäusetyphus-Stämme das Vorkommen von phagocytosebefördernden thermostabilen Stoffen im Normalserum beschrieben, ich habe es aber, da es sich um ein verhältnismäßig seltenes und unregelmäßiges Vorkommnis zu handeln schien, als zweifelhaft angesehen, ob dabei eine eigentliche Tropinwirkung oder vielleicht eine leichte Schädigung durch das relativ konzentrierte Serum vorliegt.

Außerdem war zwar in einem von Hüne und mir untersuchten Falle (Staphylokokken) durch den Bindungsversuch die Wirkung des Serums auf die Bakterien festgestellt worden, aber in den meisten Fällen lagen keine Beweise dafür vor, daß es sich um eine Beeinflussung der Bakterien und nicht etwa um eine Anregung der Leukocyten handelte.

Es sei auch daran erinnert, daß in manchen Fällen, so bei Tuberkelbazillen, schon ein Wechsel in der Salzkonzentration eine recht erhebliche Begünstigung der Phagocytose hervorrufen kann. Es schien daher die Möglichkeit nicht ganz von der Hand zu weisen, daß bei einer Steigerung der Phagocytose im konzentrierten Serum gegenüber den Kochsalzkontrollen nicht immer eigentliche Serumantikörper beteiligt sein müssen. Auch kommt bei anorganischen Partikeln, wie Kohle, Farbstoffkörnchen und Stärke eine gewisse Beförderung der Phagocytose durch konzentriertes Serum vor, welche sicherlich nicht durch Antistoffe des Normalserums, sondern auf andere Weise, wahrscheinlich durch Umhüllung der Partikel mit Eiweißstoffen zu erklären ist (Rosenthal, Porges u. a.). Sicherlich liegen daher bei Versuchen mit konzentriertem Serum mancherlei Fehlerquellen vor, die bei Verwendung verdünnter Sera wegfallen.

Seither sind jedoch durch Hektoen, Hamilton, Eggers, Rosenthal, Fornet und Porter, Bezzola u. a. phagocytoseerregende Wirkungen des inaktiven Normalserums für Blutkörperchen und Bakterien als häufig beschrieben worden; Rosenthal

macht darauf aufmerksam, daß dieselben durch den hemmenden Einfluß des konzentrierten Serums (Fornet und Porter, Rosenthal) öfter verdeckt und dann erst durch den Bindungsversuch nachzuweisen sind. Es ist daher wohl möglich, daß das Normalserum ebenso wie Ambozeptoren und Agglutinine mehr oder weniger regelmäßig auch geringe Mengen von Tropin enthält. Für die Auffassung der Tropine als Substanzen sui generis ist dieser Punkt übrigens von keiner Bedeutung.

Opsonine.

Die zweite Klasse der phagocytosebefördernden Stoffe stellen die Opsonine dar, die von Wright und Douglas im Verfolg der Beobachtungen von Leishman zunächst im Normalserum nachgewiesen wurden. In nicht seltenen Fällen hat sich aber entgegen der ursprünglichen Ansicht Wrights gezeigt, daß auch die Kontrollpräparate, welche anstatt frischen Serums Kochsalzlösung enthalten, eine bisweilen recht starke Phagocytose zeigen (Spontanphagocytose); dies ist vorzugsweise, jedoch durchaus nicht ausschließlich bei wenig virulenten Stämmen, entsprechend dem Verhalten derselben Bakterien im Tierkörper, der Fall.

Aber auch dem Opsonin gegenüber zeigen virulente und avirulente Stämme, oft ein grundsätzlich verschiedenes Verhalten. So ist von Rosenow und neuerdings von Zade und Strouse nachgewiesen worden, daß virulente Pneumokokken durch Normalopsonin nicht beeinflußt wurden, während avirulente teils unter dem Einfluß des Opsonins, teils bereits in bloßer Kochsalzlösung stark gefressen wurden.

Das Vorkommen der Opsonine ist hauptsächlich im menschlichen Serum studiert worden, aber auch in den Sera zahlreicher Tiere bis zu Kaltblütern und Wirbellosen (Krebse, Muscheln) herab sind Opsonine gefunden worden (Rüdiger und Davis u. a.).

Normalopsonine sind von Wright und seinen Schülern, von Gruber und Futaki, Bächer, Löhlein a. a. gegenüber den meisten Bakterienarten nachgewiesen worden, so gegen Staphylokokken, Tuberkelbazillen, Typhus-, Ruhr-, Cholera-, Paratyphus-, Pest-, Diphtherie-, Rotlaufbazillen, Meningokokken, avirulenten Strepto- und Pneumokokken u. a. Besonders wichtig ist der von Gruber und Futaki an Typhusbazillen geführte Nachweis, daß dieselben Wirkungen des Normalserums auch im Tierkörper zu beobachten sind, ferner der bei den meisten, aber nicht bei allen Bakterien, z. B. nicht bei Tuberkelbazillen und Rotlaufbazillen gelieferte Nachweis einer intrazellulären Degeneration der Bakterien. Abgesehen von diesen letzteren noch nicht geklärten Fällen haben wir sicherlich die Opsonine als eine der wichtigsten, vielleicht sogar als die wichtigste Ursache der natürlichen Immunität anzusehen.

Wirkung der Opsonine im Körper.

Daß die Opsonine auch in vivo eine äußerst schnelle, von rascher intrazellulärer Verdauung gefolgte Phagocytose bewirken, haben Gruber und Futaki speziell für die Wirkung des Meerschweinchenserums auf Typhusbazillen erwiesen. Ähnliche Versuche sind bereits früher von Levaditi für Cholera mitgeteilt worden, doch scheint es mir sehr erwünscht, in dieser Richtung weitere Beobachtungen zu sammeln.

Meines Erachtens ist diese fundamental wichtige Seite der Opsoninforschung anfänglich über den Bestrebungen einer praktisch klinischen Ausnutzung der neuen Technik zu sehr in den Hintergrund getreten. Es wäre zu wünschen, daß auch nur ein kleiner Teil der Zeit und Mühe, die den Verbesserungen der Technik der Indexzählung gewidmet worden ist, für weitere vergleichende Untersuchungen über die Opsoninwirkung im Reagenzglase und im Organismus verwendet würde.

Möglichkeit einer therapeutischen Verwertung der Normalopsonine.

An dieser Stelle sei erwähnt, daß sich die Normalopsonine möglicherweise in gewissen Fällen auch therapeutisch verwerten lassen. Bekanntlich wirkt menschliches Normalserum stark opsonisch auf Meningokokken, während die Lumbalflüssigkeit von Genickstarrekranken nach Mackenzie & Martin und Houston fast gar keine Opsonine und Komplemente enthalten soll. Nun haben Mackenzie & Martin in zwei Fällen, und zwar anscheinend mit günstigem Erfolge, den interessanten Versuch gemacht, Genickstarrekranke durch intralumbale Einspritzungen ihres eigenen, ihnen kurz zuvor entzogenen Serums zu heilen, und auch Böhme berichtet über gleiche Versuche.

Wenn sich über den Erfolg eines solchen Verfahrens auch noch kein Urteil abgeben läßt, so erscheint dasselbe theoretisch doch rationell; auch könnte man m. E. versuchen, dasselbe mit der Injektion von spezifischem Serum zu kombinieren. Die erwähnten Versuche gehen im Grunde von denselben Überlegungen aus, die uns zu der Annahme geführt haben, daß bei der Bierschen Stauung (neben anderen Faktoren!) den in das Stauungsödem übergehenden Opsoninen eine Heilwirkung zukommt. In dieser Hinsicht sei auf die sorgfältigen neueren experimentellen Untersuchungen von Shimodaira und von Josiani betreffend den Gehalt solcher Ödemflüssigkeiten an Opsoninen, Ambozeptoren usw. verwiesen. Wenn der letztere Autor daraus, daß die Ödemflüssigkeit in der Regel nicht mehr Opsonin enthält wie das Serum, den Schluß zieht, daß die Wirkung der Stauung nicht auf Opsoninen beruhen könne, so ist darauf hinzuweisen, daß der Nutzen wohl hauptsächlich darin gesucht wird, daß die im Serum schon enthaltenen Stoffe infolge der Stauung in größeren Mengen an solche Stellen hingelangen, wo sie sonst fehlen oder ungenügend vorhanden sind.

Konstitution der Opsonine.

Über die Konstitution der Opsonine kann ich kurz hinweggehen, da ihre Zusammensetzung aus Ambozeptor und Komplement jetzt fast allgemein anerkannt ist; nur Fornet und Porter haben sich kürzlich dagegen ausgesprochen. Entsprechend ihrer komplexen Zusammensetzung werden die Opsonine nicht nur durch Erhitzen, sondern durch alle Faktoren, welche Komplement zerstören oder ablenken, unwirksam; ferner ist die Trennung des Opsonins in seine beiden Teilstücke und ebenso seine Wiederzusammensetzung aus Ambozeptor und Komplement unter geeigneten Bedingungen gelungen.

Hata ist es sogar gelungen, das opsonische Komplement, ebenso wie Ferrata das hämolytische, in zwei Teilstücke, „Endstück" und „Mittelstück" zu zerlegen, ein Befund, der wohl ganz deutlich für die Beteiligung eines echten Komplements bei der Opsoninwirkung spricht.

Daß die Trennung und Wiederzusammensetzung des Opsonins in Ambozeptor und Komplement nicht ohne weiteres in allen Fällen gelingt (so z. B. nicht in den Versuchen von Fornet und Porter) darf wohl nicht Wunder nehmen. Vorbedingung ist dafür natürlich zunächst ein geeignetes Mengenverhältnis von Ambozeptor und Komplement in dem komplettierenden Serum. Ferner wird man sich der analogen Schwierigkeiten bei den Lysinen, insbesondere im Normalserum, sowie der besonders von Rosenthal studierten Hemmungswirkung des konzentrierten Serums erinnern, die oft störend einwirkt und besondere Modifikationen der Technik erfordert.

Nach Fornet und Porter wirkt der Hemmungsstoff nur auf Opsonine, nicht auf Tropine („Antiopsonin"); er hemmt also vermutlich die Komplementwirkung und dürfte analog aufzufassen sein, wie nach Bordets neuen Arbeiten die „antagonistischen Substanzen" Pfeiffers. Von anderen Autoren (Neufeld und Bickel, Bezzola) ist jedoch auch bei Tropinen eine Hemmung durch Überschuß von Serum beobachtet worden. Die Bindungsversuche können auch dadurch erschwert werden, daß nach Dean, Hektoen, Meyer, Fornet, Sellards die Fixation der Normalopsonine keine allzufeste ist, so daß sie bei ausgiebigem Waschen verloren gehen können. Eingehende Versuche über die Schnelligkeit der Bindung von opsonischem Ambozeptor und Komplement verdanken wir Rosenthal.

Daß auch die Kältetrennungsversuche nicht immer eindeutig ausfallen, sondern zum Teil ganz entgegengesetzte Ergebnisse gezeitigt haben (die einen Autoren sahen bei 0° isolierte Bindung der opsonischen Ambozeptoren, andere dagegen mehr oder weniger starke Bindung des ganzen Opsonins), ist nach neueren Feststellungen von Neufeld, Haendel, Sachs und Bolkowska begreiflich; denn hiernach kann je nach der Menge und vielleicht auch der Art des vorhandenen Ambozeptors bei 0° bald eine isolierte Bindung des Ambozeptors, bald eine solche von Ambozeptor und Komplementmittelstück, bald schließlich Bindung des ganzen Komplements eintreten. Die genannten Serumstoffe sind in bezug auf ihre Affinitäten bei 0° nicht, wie man bis vor kurzem annahm, prinzipiell, sondern nur graduell verschieden. Nach dem Gesagten wird man sich durch den negativen Ausfall gewisser Versuche ebensowenig wie durch die richtige Bemerkung Fornets, daß manche der mitgeteilten Komplettierungsversuche nicht einwandfrei sind, an der Annahme irre machen lassen, die ja von vornherein so überaus wahrscheinlich war, daß nämlich die Opsoninwirkung im Grunde nichts weiter als eine Ambozeptor-Komplementwirkung ist. Vereinzelte Beobachtungen Fornets, wonach Opsonine und Komplemente bei Dialyseversuchen und bei Salzsäurezusatz verschiedenes Verhalten zeigen, bedürfen wohl noch weiterer Ergänzung.

Immunopsonine.

Aber nicht nur die Normalsera, sondern auch die Immunsera enthalten Opsonine. Solche phagocytären Stoffe von komplexer Zusammensetzung sind gegenüber Typhus-,

Ruhr-, Koli- und anderen Bazillen, ferner gegenüber Erythrocyten nachgewiesen worden.

Kürzlich fanden Sauerbeck, v. Gruber, Ohkubo die gleichen Stoffe im Diphtherieserum. Ihr häufiges Vorkommen kann daher nicht bezweifelt werden; die opsonischen Ambozeptoren werden aber natürlich nur da zur Geltung kommen, wo freies Komplement vorhanden ist, und ihre Trennung von den Tropinen erscheint schon aus diesem Grunde notwendig.

Sind die Opsonine mit den Bakteriolysinen identisch?

Bezüglich der viel erörterten Frage der Identität von Opsoninen und Lysinen ist zunächst der schon von Wright in Gemeinschaft mit Windsor und Douglas gelieferte Nachweis hervorzuheben, daß opsonische und bakterizide Serumwirkung nicht zusammenfallen, daß insbesondere Opsonine gegen viele Bakterienarten, wie Staphylokokken, Strepto- und Pneumokokken, Pestbazillen gefunden worden sind, bei welchen keine bakterizide Serumwirkung stattfindet, ja die sogar im stark opsonischen Serum nicht einmal eine Wachstumshemmung zeigen. Es ist daher sicher, daß die kürzlich noch von v. Baumgarten vertretene Vorstellung, wonach nur die durch die bakteriziden Serumstoffe schon geschädigten Bakterien von den Leukocyten aufgenommen werden sollen, nicht zutrifft. Die vorliegende Frage des Verhältnisses zwischen Opsonin und Lysin tangiert daher bei allem sonstigen prinzipiellen Interesse meines Erachtens die Bedeutung der Opsonine überhaupt nicht.

Nimmt man die Identität an, so muß man sich vorstellen, daß bei manchen Bakterien Ambozeptor und Komplement auch bei reichlicher Anwesenheit nur opsonisch, aber nicht lytisch wirken, daß dagegen bei anderen Arten dieselben Stoffe sowohl Lösung wie Phagocytose bewirken, wobei zur letzteren Wirkung offenbar in der Regel weit kleinere Mengen genügen. Mir selbst ist diese letztere Annahme zunächst als die einfachste und nächstliegende erschienen. Bei gemeinsamen Versuchen mit Bickel sah ich eine sehr starke Phagocytose von Blutkörperchen eintreten, wenn wir zu einer an sich unwirksamen Verdünnung von spezifischem Serum ganz kleine Mengen von Komplement zufügten, Mengen, die lange nicht ausreichten, um eine Lösung der Blutzellen zu bewirken; wir haben damals diese Phagocytose auf kleine „unterlytische“ Mengen des komplexen Hämolysins zurückgeführt. Für einen Zusammenhang zwischen lytischer und opsonischer Serumwirkung hat Böhme ferner angeführt, daß Immun-Opsonine vorwiegend da zu entstehen scheinen, wo auch lytische Ambozeptoren auftreten (z. B. gegen Typhus- und Kolibazillen und Blutkörperchen), während da, wo letztere nicht nachzuweisen sind, wie bei Staphylokokken und Tuberkelbazillen, die gesteigerte Wirkung des Immunserums ausschließlich auf Tropinen beruhen soll (vergl. die Versuche von Neißer und Guerrini und Böhme). Dies gilt jedoch nicht allgemein: Bei Immunisierung mit Diphtheriebazillen entstehen nach v. Gruber und Ohkubo weder lytische Ambozeptoren (entgegen der Vermutung Sauerbecks) noch Tropine, sondern ausschließlich (komplexe) Immunopsonine.

Erwiesen ist jedenfalls die Identität der beiden fraglichen Stoffe nicht, und ich halte es daher für richtiger, opsonische Ambozeptoren und lytische Ambozeptoren zu trennen, zumal Hektoen, Fornet u. a. nachdrücklich die völlige Verschiedenheit beider Stoffe vertreten. Weitere quantitative Versuche, insbesondere mit Antierythrocytensera wären zur Klärung der Frage erwünscht.

Sind die opsonischen Ambozeptoren mit den Tropinen identisch?

Kürzlich hat Hektoen die schon früher von Dean und Sleeswigk gemachte Annahme verteidigt, daß die opsonischen Ambozeptoren nichts anderes sind als die Tropine. Hiergegen spricht meines Erachtens folgendes:

1. sind uns bisher Serumstoffe, die je nach ihrem reichlichen oder spärlichen Vorhandensein bald mit und bald ohne Komplement wirken, nicht bekannt. Von einem Ambozeptor darf man nach unseren jetzigen Vorstellungen wohl nur sprechen, wenn derselbe irgendwie mit einem Komplement zusammenwirkt. Dies ist aber bei der Tropinwirkung nicht der Fall, da weder bei der Aufnahme der Bakterien bezw. Blutkörperchen, noch bei der intrazellulären Verarbeitung derselben ein Komplement in Tätigkeit tritt.

2. daß die scheinbare Labilität des Opsonins nur auf dem geringen Gehalt, die Stabilität der tropinhaltigen auf ihrem reichen Gehalt an Ambozeptoren beruhen sollte, ist deswegen unwahrscheinlich, weil es auch schwache, aber durchaus stabile Tropine und demgegenüber Opsonine gibt, die noch in sehr starker Verdünnung wirken, aber trotzdem völlig labil sind. Ein kürzlich von Fornet als Gegenbeweis angeführter vereinzelter Versuch Wrights, wonach verdünntes Tropin seine Thermoresistenz verlieren soll, ist meines Wissens nirgends bestätigt worden. Es ist aber nicht gesagt, daß alle Tropine die gleiche Thermostabilität besitzen müssen; bekanntlich sind ja auch die Agglutinine in recht verschiedenem Grade gegen Erwärmung empfindlich. Nach Böhme sind z. B. die Tuberkulose-Tropine aus menschlichem Serum relativ empfindlich gegen Erhitzung.

3. Wäre Hektoens Ansicht richtig, so müßte sich die Tropinwirkung stets durch Komplementzusatz verstärken lassen. Dies ist aber nach den bisherigen Erfahrungen nicht immer, z. B. nicht bei den von Neufeld und Rimpau untersuchten Streptokokken- und Pneumokokken-Immunsera der Fall, sondern die Komplettierung gelingt anscheinend nur in solchen Fällen, in welchen neben den Tropinen noch Ambozeptoren vorhanden sind. Auch bei Typhus-, Ruhr-, Meningitisserum habe ich häufig vergeblich versucht, ein bis zur Grenze der Wirksamkeit verdünntes Immunserum durch Zusatz einer an sich unwirksamen Komplementverdünnung zu reaktivieren. Die Bedingungen, unter denen eine solche Reaktivierung stattfindet oder ausbleibt, bedürfen noch näherer Untersuchung.

4. Umgekehrt fanden sich in den von v. Gruber und Ohkubo untersuchten Diphtherieimmunsera keine Tropine (und wie oben erwähnt wurde, auch keine Lysine), sondern ausschließlich Immunopsonine, d. h. nur in Verbindung mit Komplement wirksame phagocytäre Stoffe. Dies erscheint als ein neuer, wichtiger Beweis gegen die Annahme der Identität von Tropinen und Immunopsoninen.

5. Müßte die Wirkung desselben Serums in aktivem und inaktivem Zustande stets parallel gehen. Dies ist nach den Untersuchungen von Neißer und Guerrini bei Staphylokokken und von Böhme bei Tuberkelbazillen jedoch keineswegs der Fall. Es finden sich im Gegenteil häufig so starke Differenzen, daß aus der Untersuchung des aktiven Serums ein Schluß auf den Gehalt an Tropin überhaupt nicht zulässig ist. Stark tropinhaltige Immunsera können, nach Wright untersucht, einen normalen oder gar subnormalen Index haben. Böhme nimmt an, daß das konzentrierte aktive Serum unter Umständen die Tropinwirkung hemmt.

Somit scheinen die bisher bekannten Tatsachen für eine Trennung zu sprechen, eine Ansicht, der sich auch v. Gruber in seinem Referat auf der diesjährigen Mikrobiologen-Versammlung in Wien angeschlossen hat; gewiß sind aber noch weitere Untersuchungen erwünscht. Hierfür scheinen mir gegen Staphylokokken, besonders aber gegen Blutkörperchen gerichtete Immunsera am geeignetsten zu sein. Dabei müßten bei den letzteren jedoch in einer Anzahl von verschiedenwertigen und in verschiedener Weise gewonnenen Serumproben alle drei in Betracht kommenden Antistoffe, nämlich Tropine, opsonische und lytische Ambozeptoren quantitativ bis zur Titergrenze ausgewertet werden.

Unmittelbare Ursache der Phagocytose. Beobachtungen über Phagocytose von anorganischen Körnchen.

Wenn wir nun die Frage aufwerfen, auf welche Weise eigentlich die Anregung der Phagocytose durch die Serumstoffe zustande kommt, so ist zunächst die frühere Auffassung, als ob die Bakterien durch das Serum geschädigt oder gar völlig abgetötet und dann erst sekundär gefressen würden, sicher als irrig zurückzuweisen: die Tropine wirken nie, die Opsonine mindestens in sehr vielen Fällen absolut nicht schädigend auf die Bakterien ein und andererseits werden, wie schon Denys fand, virulente Bakterien dadurch, daß man sie abtötet, gar nicht phagocytabel gemacht. Die Bakterien erfahren also keine Schädigung, sondern eine Veränderung ganz bestimmter Art durch das Serum. Nun hat man, wie das von Metschnikoff, Deutsch und Feistmantel, besonders aber von Bail ausgeführt worden ist, sich vorgestellt, daß virulente Bakterien leukocytenfeindliche Stoffe, Aggressine produzieren, und daß darauf eben ihre Virulenz beruht; im Anschluß hieran ist dann die Vorstellung vertreten worden, daß die phagocytosebefördernden Serumstoffe als Antiaggressine wirkten. Es ist aber schon von Denys und vielen anderen gezeigt worden, daß dieselben Leukocyten, die z. B. einem virulenten Streptokokkus gegenüber völlig ohnmächtig sind, zunächst gar nicht geschädigt sind, sondern andere Bakterienarten sehr wohl fressen können, ferner sieht man, daß harmlose Zellen, wie die roten Blutkörperchen, denen man doch keine besondere Aggressivität zuschreiben kann, ohne Serumzusatz völlig unberührt von den Phagocyten bleiben. Schließlich müßten wir uns, da die Leukocyten bekanntlich die Fähigkeit besitzen, die roten Blutkörperchen und andere Zellen des eigenen Körpers zu fressen und zu verdauen, sogar vorstellen, daß alle diese Zellen sich davor dauernd durch Abgabe besonderer Abwehrstoffe schützen müssen.

Wie einfach erscheint demgegenüber die umgekehrte Vorstellung, daß die Phagocyten nur dann in Tätigkeit treten, wenn sie durch besondere Lockstoffe, die von einem in ihrer Nähe liegenden Bakterium oder einer Zelle abgegeben sind, gereizt werden. Die hochvirulenten Septikämieerreger würden dann ebenso wie die roten Blutzellen keine solchen Stoffe abgeben und daher niemals spontan gefressen werden, eine Reihe anderer Bakterien, besonders avirulente Arten, aber auch manche virulenten, wie Rotlauf- und Tuberkelbazillen, geben regelmäßig solche Stoffe ab (Spontanphagocytose), andere wiederum erst unter dem Einfluß eines Normal-, noch andere schließlich erst unter dem Einfluß eines Immun-Serums. Von diesen Reizstoffen müssen wir uns vorstellen, daß sie in irgend einer Weise auf die Oberflächenspannung der Phagocyten wirken.

Bezüglich der Entstehung dieser Lockstoffe habe ich die Auffassung vertreten, daß ein bestimmter Bestandteil der Bakterienzelle, vermutlich der Hüllschicht, durch das Tropin oder Opsonin in Lösung gebracht wird, ähnlich wie für das Agglutinin ein umgekehrter Vorgang, nämlich ein Koagulationsprozeß angenommen wird; in beiden Fällen handelt es sich um Vorgänge, die in der Hüllschicht der Zelle sich abspielend die Lebensfähigkeit derselben in keiner Weise beeinflussen.

In neuester Zeit ist aber noch eine andere Theorie der Serumwirkung aufgestellt worden, nämlich die Umhüllungstheorie. Es ist bereits von Wright und Douglas, Dudgeon und Shattok beobachtet worden, daß auch anorganische Partikel, wie Carmin, Tusche und Melanin, öfters in aktivem Normalserum besser von den Phagocyten aufgenommen werden, als in Kochsalzlösung oder inaktivem Serum. Genauer hat Rosenthal diese Wirkung des Serums gegenüber Kohlekörnchen studiert. Er führt sie auf Adsorption von Serumstoffen und Umhüllung der Partikel zurück und weist auf die Möglichkeit hin, solche Vorgänge zur Erklärung aller Tropin- und Opsoninwirkungen heranzuziehen. Alsdann hat Porges in Phagocytoseversuchen mit Reis und Weizenstärke ebenfalls eine anregende Wirkung des aktiven Normalserums festgestellt (während inaktives Serum meist hemmend wirkte). Er glaubt ebenfalls, daß auch gegenüber Bakterien die Phagocytose-befördernde Wirkung des Serums auf Umhüllung mit irgend welchen Serumstoffen, Agglutininen, Ambozeptoren, Komplementen beruhe, wodurch „positive Chemotaxis" eintreten soll. Die letztgenannte Vorstellung findet in den vorliegenden Beobachtungen keine Stütze, da z. B. Agglutinine, wie ich mich sehr oft überzeugen konnte, nicht Phagocytose-befördernd wirken, es genügt also die „Umhüllung" mit einem beliebigen Serumstoffe nicht. Es ist ferner bekannt, daß alle möglichen Bakterien Komplement absorbieren, eine Opsonisierung findet aber dadurch nur bei bestimmten Arten statt. Grob physikalische Anschauungen sind daher wohl sicher ungeeignet, für sich allein die spezifischen Vorgänge der Phagocytose zu erklären. Auch sonst ist es wohl noch sehr fraglich, inwieweit solche Beobachtungen an kleinsten Partikeln, die zum Teil, wie die Kohle, ein ganz außerordentliches Adsorptionsvermögen für Eiweißstoffe besitzen, sich mit den Vorgängen der Sensibilisierung von Bakterien vergleichen lassen. Eine endgültige Beantwortung werden freilich die hier berührten Fragen wohl erst dann finden, wenn wir auch über die eigentliche Wirkung der anderen Antikörper, zu deren Erklärung die Analogie

mit Kolloidreaktionen ja in letzter Zeit ebenfalls vielfach herangezogen worden ist, bestimmtere Vorstellungen besitzen werden.

Während in den Versuchen von Porges das Serum mit Stärke vorbehandelter Tiere keine erhöhte Wirkung ausübte, hat kürzlich Ledingham über sehr merkwürdige Beobachtungen berichtet, wonach die Phagocytose von Melaninkörnchen, die, wie erwähnt, durch aktives Normalserum befördert wird, eine weitere erhebliche Verstärkung durch das Serum mit Melanin vorbehandelter Tiere erfahren soll, und zwar soll der betreffende Stoff des Immunserums komplexer Natur sein, also ein Immunopsonin darstellen. Die von dem Autor in Aussicht gestellten weiteren Mitteilungen werden abzuwarten sein. Es sei darauf hingewiesen, daß sich bei den eingehenden Versuchen Rosenthals über die Phagocytose von Kohle im aktiven Normalserum eine Mitwirkung komplexer Stoffe nicht nachweisen ließ.

Technik und klinische Verwertung der Opsoninuntersuchungen.

Was die Technik der Opsonin-Untersuchung betrift, so geschieht dieselbe fast allgemein nach der von Leishman entdeckten und von Wright und Douglas modifizierten Methode mit Benutzung der Leukocyten des zirkulierenden Blutes. Dabei wird das Sediment des Blutes, das sowohl die weißen wie die roten Blutkörperchen enthält, mit dem zu untersuchenden frisch entnommenen Serum und mit einer Bakterienaufschwemmung in einer Kapillare gemischt, und kurze Zeit, meist 8 bis 15 Minuten bei 37° gehalten. Gleichzeitig wird ein Kontrollversuch mit einem Normalserum angestellt und alsdann in beiden Präparaten der Grad der Phagocytose durch Zählung der durchschnittlich von einem Leukocyten aufgenommenen Bakterien vergleichend festgestellt.

Bekanntlich ist von Wright und seinen Anhängern den meist recht geringfügigen Schwankungen, welche der Opsoningehalt des menschlichen Serums im Verlaufe von Infektionskrankheiten und unter dem Einflusse einer spezifischen Behandlung erleidet, eine große praktische Bedeutung zugeschrieben worden. Einmal wurde ein abnormer Opsoningehalt als diagnostisch bedeutsam angesehen, vor allem aber wurde die fortlaufende Bestimmung des opsonischen Index für unumgänglich erachtet, um eine Tuberkulinkur oder eine Behandlung von Furunkulose, Akne und anderen auf Staphylokokken beruhenden Affektionen mit einem aus abgetöteter Staphylokokkenkultur bestehendem Impfstoffe richtig durchzuführen. Von den übertriebenen Erwartungen, die man eine Zeitlang für die klinische Praxis an die Opsoninuntersuchung geknüpft hat, ist man jetzt wohl allgemein zurückgekommen: als diagnostisches Mittel hat sich die Indexuntersuchung, obwohl sie von einem geübten Untersucher in gewissen Fällen mit Vorteil herangezogen werden kann, nicht einzubürgern vermocht[1]), und für die von vornherein

[1]) Von neueren Untersuchungen über die klinische Verwertung des Index sei insbesondere auf die Arbeiten Böhmes verwiesen, der die Angaben Wrights über den diagnostischen Wert der Indexuntersuchung für chronische Staphylokokkenaffektionen, sowie für die Feststellung der Ätiologie von Exsudaten nicht bestätigen konnte.

Weiter spricht sich Böhme dahin aus, daß der Phagocytoseversuch auch für die Diagnose der Tuberkulose verhältnismäßig selten praktisch verwendbar sein wird, obwohl seine Unter-

außerordentlich unwahrscheinliche Vorstellung, daß die Schwankungen des Opsoningehaltes einen direkten Schluß auf klinische Besserung bezw. auf Verschlimmerung zulassen, sind keine Beweise geliefert worden. Auch dafür, daß z. B. eine unter steter Indexkontrolle durchgeführte Tuberkulinkur bessere Aussichten bietet, als ohne solche Kontrolle, finde ich in Wrights eigenen Veröffentlichungen keinen rechten Anhaltspunkt. Gewiß basiert die spezifische Therapie durchaus auf der Immunitätsforschung und wird auch weiterhin aus solchen theoretischen Forschungen Anregungen zu erwarten haben. In diesem Sinne ist der von Wright gelieferte Nachweis, daß schon ganz kleine Tuberkulindosen eine Bildung von Antikörpern auszulösen vermögen, von großem Interesse; nur geht daraus nicht hervor, daß solche Dosen therapeutisch ebenso gut oder besser wirken, als größere. Den Opsoningehalt als maßgebend für die Tuberkulinbehandlung anzusehen, erscheint mir aus mehreren Gründen völlig verfehlt. Einmal ist im allgemeinen die bei der Immunisierung ins Blut übergehende Menge von spezifischen Stoffen erfahrungsgemäß kein direkter Maßstab für den Immunitätszustand des Organismus. Zweitens ist es gerade für die Tuberkulose nicht sicher erwiesen, daß die phagocytären Antistoffe bei der Heilung derselben beteiligt sind, und gänzlich unwahrscheinlich ist es, daß sie gar die einzigen Faktoren sein sollten, die dabei in Betracht kommen; im Gegenteil ist als sicher anzunehmen, daß z. B. die durch eine Tuberkulininjektion bewirkte lokale Hyperämie und vermehrte Durchtränkung des erkrankten Gewebes für die Heilung von wesentlichster Bedeutung ist[1]). Schließlich ist es gar nicht einmal sicher, daß die Untersuchung nach Leishman-Wright einen wirklichen Maßstab für die neugebildeten spezifischen Tuberkulose-Antistoffe gibt, vielmehr geht aus Böhmes neuesten Untersuchungen hervor, daß bisweilen Sera mit ziemlich niedrigem Index reichliche spezifische, nämlich thermostabile Antikörper, andererseits Sera mit relativ hohem Index sehr wenig davon enthalten können. Es sei auch auf meine früheren ausführlichen Darlegungen (Berliner klin. Wochenschr. 1908, Nr. 21) verwiesen, wonach die Indexbestimmung insofern auf falscher Grundlage beruht, als sie nicht nur Schwankungen der Immunstoffe, sondern ebenso gut Schwankungen des Komplementgehaltes anzeigt. Die neueren Tierversuche von Poggenpohl bieten gute Beispiele hierfür.

Ich glaube daher, daß die Dosierung bei der Tuberkulin und sonstigen spezifischen Therapie doch in letzter Instanz der klinischen Erfahrung überlassen werden muß.

Da mir hiernach der Nutzen einer minutiösen Beobachtung der Index-Schwankungen nicht festzustehen scheint, so kann ich über die viel erörterte Frage, bis zu welchem Grade der Genauigkeit sich diese Schwankungen zahlenmäßig verfolgen lassen,

---

suchung ebenso wie die von Lüthje in bezug auf neugebildete thermostabile Antikörper interessante Ergebnisse lieferte, welche frühere Befunde von Wright u. Reid im wesentlichen bestätigen. Während sich im Normalserum beim Menschen keine Tuberkulosetropine nachweisen ließen, fanden sie sich bei Tuberkulösen im ersten Stadium in etwa einem Viertel, im zweiten Stadium in der Hälfte, im dritten in drei Vierteln der untersuchten Fälle.

[1]) Kürzlich hat sich auch Saathoff (Münch. med. Woch. 1909, Nr. 40) in beachtenswerten Ausführungen auf einen ähnlichen Standpunkt gestellt.

kurz hinweggehen. Trotz der außerordentlich zahlreichen und mühevollen Arbeiten, die gerade dieser Frage gewidmet worden sind, ist eine Einigung unter den Autoren nicht erzielt worden; die Angaben von Wright und seinen unmittelbaren Schülern scheinen von einer allgemeinen Anerkennung trotz der vielfachen technischen Verbesserungsversuche jetzt weiter entfernt zu sein, als im Beginne. Ich glaube, daß auf alle diese Untersuchungen weit mehr Mühe verwendet worden ist, als ihrer Bedeutung entspricht.

Bedeutung der phagocytären Serumstoffe für die Immunität.

Bei aller Bedeutung, die wir der Phagocytose zuerkennen müssen, ist es notwendig, sich vor unberechtigten Verallgemeinerungen zu hüten. Zu bedenken ist zunächst, daß unsere Versuche in vitro insofern einseitig sind, als dabei nur Leukocyten benutzt worden, während im Körper auch Endothel- und Organzellen sich vielfach stark bei der Phagocytose beteiligen. Diese mögen sich sowohl in bezug auf die Aufnahme als auf die Verarbeitung der gefressenen Keime bisweilen anders verhalten, wie die Leukocyten; sehen wir doch schon deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Leukocytenarten. Briscoe hat gezeigt, daß Organzellen (Alveolarzellen der Lunge) unter Umständen auch zur Phagocytose in vitro geeignet sind; eine weitere Fortsetzung solcher Versuche erscheint erwünscht.

Abgesehen von der oben besprochenen Forderung, nicht nur die Aufnahme der Keime, sondern auch deren Abtötung durch die Phagocyten nachzuweisen, wurde ferner bereits erwähnt, daß die Beobachtungen im Reagenzglase stets durch solche im Tierkörper zu kontrollieren sind: beide Methoden müssen einander auf Schritt und Tritt ergänzen[1]). Bisher hat sich dabei eine ausgezeichnete Übereinstimmung ergeben und in einigen Fällen, wo zunächst, wie bei der Phagocytose der Pest- und der Milzbrandbazillen, eine Divergenz vorzuliegen schien, ist die Ursache hierfür von Löhlein und v. Gruber darin gefunden worden, daß diese Bakterien im Tierkörper Kapseln bilden und daß die mit einer Kapsel versehenen Formen nicht von Leukocyten gefressen werden. Sobald man für die Versuche in vitro ebenfalls Kapselbakterien nimmt, wie man sie bei Züchtung in Serum erhält, ergibt sich völlige Übereinstimmung mit den Beobachtungen im Tierkörper. In den neuen Arbeiten von Preiß und Fischöder wird allerdings die Bedeutung der Kapselbildung im Sinne v. Grubers nicht anerkannt. Auch bei Fischöders Untersuchungen über Milzbrand ergab sich jedoch, so sehr die Auffassung des Autors im übrigen von der

---

[1]) Leider wird diese Forderung vielfach, besonders von den Untersuchern der Wrightschen Schule vernachlässigt. Die zahlreichen Untersuchungen über den Streptokokken-Index z. B., auf Grund deren u. a. Meakins (Journ. of exp. Med. VI, 815) kürzlich wiederum das „Entstehen einer hochgradigen opsonischen Immunität" bei Streptokokkenkrankheiten des Menschen behauptet, würden m. E. einen ganz anderen Wert erhalten, wenn die Autoren einmal den Versuch machten, die Virulenz ihrer Streptokokken und den Schutzwert ihrer „hochwirksamen" Sera im Tierversuch zu bestimmen. Ein weiteres Beispiel: Römer (Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion, Wiesbaden 1909) polemisiert sehr eingehend gegen meine Angabe, daß die Wirkung des Pneumokokkenserums auf Tropinen beruhe und beruft sich auf zahlreiche negative Reagenzglasversuche mit dem Serum vorbehandelter Meerschweinchen und Kaninchen; er versäumt aber die Hauptsache, nämlich mitzuteilen, welchen Schutzwert diese Sera denn im Tierversuch hatten.

v. Grubers abweicht, nichts, was gegen eine Übereinstimmung der phagocytären Vorgänge in vivo mit denen in vitro spricht.

In dieser Hinsicht sind die Leistungen der Beobachtungsmethode nach Denys vielleicht den älteren und länger studierten Methoden überlegen, welche die in den Körpersäften ablaufenden bakteriziden Prozesse in vitro nachzuahmen sich bemühen. So vorzügliche Dienste diese Methoden geleistet haben, so völlig versagen sie in einzelnen Fällen, worauf Töpfer und Jaffé, Neufeld und Hüne für die Paratyphusinfektion des Meerschweinchens hingewiesen haben. Es tritt nämlich, wenigstens bei gewissen Paratyphusstämmen, wie die Beobachtungen von Kutscher u. Meinicke zeigen, im Peritoneum unter dem Einfluß des Immunserums eine annähernd ebenso starke und schnelle Bakteriolyse, wie bei Choleravibrionen ein, und trotzdem läßt sich im Plattenversuch in vitro eine Abtötung durch Immunserum und Komplement (auch mit Peritonealflüssigkeit vom Meerschweinchen) durchaus nicht erzielen, während der gleiche Versuch bei Cholera und Typhus ganz regelmäßig gelingt. Hieran scheinen mir auch die neuen Befunde Bezzolas, der durch enorm große Dosen von Immunserum und Komplement bei einem Paratyphusstamm in vitro Andeutungen von Bakteriolyse erhielt, nichts zu ändern; es bleibt eine fundamentale Differenz zwischen dem Verhalten von Typhus- und Cholerabazillen einerseits und Paratyphusbazillen andererseits bestehen, die noch der Erklärung harrt. Die Annahme liegt nahe, daß bei der Paratyphusauflösung im Peritoneum in der Hauptsache nicht das uns bekannte Komplement beteiligt ist, sondern andere Stoffe, die vielleicht von den Körperzellen nur bei Bedarf, auf gewisse Reize hin, abgegeben werden. Derartige Stoffe sind ja neuerdings, worauf sogleich noch zurückzukommen sein wird, von v. Gruber und Futaki, Much, Schneider, Weil und seinen Mitarbeitern studiert worden; nach Weil und Tsuda sollen sich auch komplexe Stoffe darunter finden.

Es wäre eine durchaus voreilige Annahme, daß alle antibakterielle Immunität, soweit sie nicht durch die bakteriziden Ambozeptoren bedingt ist, auf Phagocytose zurückzuführen sein müßte. Sicher stehen wir erst im Anfange der Erkenntnis der komplizierten Immunitätserscheinungen; ich möchte nur kurz auf die soeben erwähnten Entdeckungen v. Grubers und seiner Mitarbeiter über die neuartigen bakteriziden Stoffe hinweisen, die teils aus Blutplättchen stammen, teils von Leukocyten sezerniert werden und die offenbar eine wichtige Rolle bei der Immunität mancher Tierarten gegen Milzbrand, vielleicht auch gegenüber anderen Krankheitserregern spielen. Auch Much sowie Weil und seine Mitarbeiter Toyosumi und Tsuda legen in ihren neuesten Arbeiten sezernierten (mit dem Komplement keineswegs identischen) Leukocytenstoffen eine große Bedeutung bei; insbesondere fanden sie dieselben gegenüber Milzbrand und Schweinerotlauf wirksam.

Aus allen diesen neueren Untersuchungen geht jedenfalls hervor, wie vielseitig die Abwehrmittel sind, die dem Organismus zu Gebote stehen, und wie erhebliche Verschiedenheiten auch der gleichen Bakterienart gegenüber sich zuweilen ergeben, wenn man Körpersäfte und Leukocyten verschiedener Spezies untersucht. Aber auch in dem Verhalten verschiedener Bakterienstämme der gleichen Art muß man auf gewisse

Unterschiede gefaßt sein. Die erwähnten Untersuchungen beziehen sich zunächst auf die natürliche Immunität; man darf aber vielleicht die Hoffnung aussprechen, daß die Anwendung der gleichen Methoden auch für manche Probleme der erworbenen Immunität, wie für die Erkenntnis der noch völlig dunkeln Wirkungsweise des Rotlaufserums, von Nutzen sein wird.

Keinesfalls aber darf man aus diesen neuen Befunden die Ansicht herleiten, daß nun überhaupt die Leukocyten überwiegend durch sezernierte Stoffe bakterienfeindlich wirkten, und daß die Phagocytose ganz nebensächlich sei. Abgesehen davon, daß es zur völligen Klarstellung der Bedeutung dieser Sekretionsstoffe wohl noch vieler Untersuchungen bedarf, ist es von vornherein wohl richtiger, solche neuen Beobachtungen im Sinne einer Ergänzung, nicht wie es jetzt bisweilen geschieht, eines Umsturzes bis dahin bewährter Anschauungen aufzufassen.

Wenn man im Beginn der Immunitätsforschung vielleicht hoffen durfte, alle Immunitätserscheinungen auf eine oder zwei Formeln zurückzuführen, so sprechen alle neueren Erfahrungen im entgegengesetzten Sinne. So ist auch die Bedeutung der phagocytosebefördernden Serumstoffe für die Immunität sicherlich nur eine begrenzte, innerhalb dieser Grenzen stellen sie jedoch einen so wertvollen und gesicherten Zuwachs unserer Kenntnisse dar, daß sie ebenso wie die Antitoxine und die Pfeifferschen Immunkörper noch manche „Krisen" der Immunitätslehre überdauern werden.

Literatur.

Nachstehend sind die im Text zitierten neueren Arbeiten zusammengestellt, die in der Monographie des Verfassers in Kolle-Wassermanns Handbuch, II. Erg.-Band noch nicht berücksichtigt worden sind. Im übrigen sei auf das dortige Literaturverzeichnis verwiesen.

Bechhold, Münchener med. Wochenschr. 1908, Nr. 34.

Bezzola, Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 50, Heft 5. Vergl. dazu die Entgegnung Neufelds ebenda Bd. 51, Heft 5, S. 572.

Böhme, Münchener med. Wochenschr. 1909, Nr. 22 u. 23, S. 1117.

Derselbe, Arch. f. klin. Med. Bd. 96, S. 167.

Derselbe, ebenda S. 195.

Dudgeon, Proc. roy. soc. Bd. 80, S. 531 und Bd. 81, S. 207.

Eggers, Journal of infect. diseases V, S. 263, 1908.

Fischöder, Zentralbl. f. Bakteriol. Or. Bd. 51, H. 4.

Fornet, Vortrag auf der Wiener Mikrobiologen-Versammlung, ebenda Bd. 44.

Fornet und Porter, ebenda Bd. 48, S. 461; Bd. 51, S. 138. 1909.

v. Gruber, Referat auf der Wiener Mikrobiologen-Versammlung 1909, Zentralbl. f. Bakt. Ref., Bd. 44, Beiheft.

v. Gruber und Ohkubo zitiert ebenda.

Hamilton, Journ. of infect. diseases V, S. 570.

Hata, Zeitschr. f. Hygiene Bd. 61.

Hektoen, Journ. of infect. diseases V, 249, VI, S. 66 u. S. 78. 1909.

Jobling, Journ. of exper. med. XI, Heft 4, S. 614.

Jochmann, Zeitschr. f. Hygiene Bd. 61, S. 71.

Josiani, ref. Zentralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 44, S. 542.

Kämmerer und Meyer, Folia hämat. Bd. 7, Heft 3, Januar 1909.

Kantorowicz, Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 18, S. 897.

Kutscher und Meinicke, Zeitschr. f. Hygiene Bd. 52.

Kraus und Bächer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3, Heft 1.

Ledingham, ebenda Bd. 3, Heft 2, S. 119.

v. Liebermann und v. Fengvessy, ebenda Bd. 2, S. 43.

Lüthje, Therapeut. Monatshefte 1909, Heft 1.

Meakins, Journ. of exp. med. XI, Heft 1, S. 100. 1909.

McKenzie und Martin, Journ. of pathol. and bacteriologie, XII, 539. 1909.

Much, Jahrbücher der Hamburger Staatskrankenanstalten Bd. XII, 169.

Derselbe, Münch. med. Wochenschr. 1909, 2662.

Neufeld, Beobachtungen über die Auflösung von Cholerabazillen. Zeitschr. f. exp. Pathol. und Therapie Bd. 6 (Festschrift f. Brieger) S. 729.

Derselbe, Diskussion zum Referat von Gruber. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 44, Beiheft, S. 35 f.

Nunokawa, Arch. f. Hyg. Bd. 71, Heft 3, S. 277.

Ohkubo, Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 4, S. 1.

Poggenpohl, soc. de Biologie, Bd. 67, 132.

Porges, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 2, Heft 2, S. 4.

Rosenthal, Mikrobiol. Vers. 1909, Zentralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 44, Beilage S. 14.

Rowley, Journ. of exp. med. X, 78, 1908; New-York med. Journ. 1907, 674.

Sachs und Bolkowska, zitiert nach Sachs, Kolle-Wassermanns Handbuch, II. Erg.-Band.

Sauerbeck, Folia serol. II, S. 1.

Derselbe, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. III, Heft 7, S. 731.

Shimodaira, Deutsche med. Wochenschr. 1909, S. 525.

Simon, Melvin, Roche, Journ. of exp. med. XI, Nr. 5, 695. 1904.

Strouse, ebenda S. 743.

Toyosumi, Arch. f. Hyg. Bd. 71, Heft 3. 1909.

Tsuda, ebenda.

Weil und Toyosumi, ebenda.

Weil ebenda und Vortrag auf der Mikrobiol. Vers. 1909.

Werbitzki, Arch. f. Hyg. Bd. 70, S. 270.

Zade, Zeitschr. f. Immunitätsforschung. II, S. 81.

Über elektive Choleranährböden, insbesondere den Dieudonnéschen Agar.

Von

Prof. Dr. F. Neufeld, Regierungsrat und Mitglied des Kaiserl. Gesundheitsamtes,

und

Dr. Woithe, Kgl. Bayer. Oberarzt, kommandiert zum Kaiserl. Gesundheitsamte.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit (1) hat Dieudonné mitgeteilt, daß es ihm gelungen ist, einen Nährboden herzustellen, auf dem Choleravibrionen sehr üppig wachsen, während andere Bakterienarten, insbesondere die Kolibazillen nicht zur Entwicklung kommen. Gleichzeitig veröffentlichte Huntemüller (2) die Ergebnisse seiner im Kgl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin ausgeführten Versuche mit diesem neuen Nährboden. Sie waren durchaus günstig ausgefallen, so daß dieser Autor die Angaben Dieudonnés bestätigen konnte. Auch wir haben — sofort nach dem Erscheinen der genannten beiden Arbeiten — eine Prüfung des Nährbodens begonnen und in deren Verlauf ebenso wie Huntemüller günstige Ergebnisse erzielt, die am 21. Mai 1909 in der Berliner militärärztlichen Gesellschaft und am 21. September 1909 auf der Salzburger Naturforscherversammlung (3) kurz mitgeteilt wurden und nun im folgenden eine eingehendere Besprechung finden sollen.

I.
Frühere Versuche über stark alkalische Choleranährböden
(Deycke, Deeleman u. A.).

Es ist seit langer Zeit bekannt, daß der Choleravibrio im Vergleich zu anderen Bakterienarten außerordentlich viel Alkali verträgt, und daß er einen gewissen ziemlich hohen Alkaleszenzgrad geradezu zu einer gedeihlichen Entwicklung braucht. Schon im Jahre 1888 hat Kitasato (4) in einer Arbeit diese Tatsache erwähnt, ohne sie praktisch weiter zu verfolgen. Fünf Jahre später wies Arens (5) darauf hin — Optimum der Alkaleszenz 0,05—0,08% KOH —, und etwa zur gleichen Zeit schrieb Hesse (6): „Nicht minder interessant ist es zu beobachten, welche Widerstandsfähigkeit der gegen Säure so empfindliche Cholerabazillus Alkali gegenüber besitzt, indem er noch, wenn auch kümmerlich, in Nährböden wächst, welche Kurkumapapier deutlich bräunen." Damals kam zuerst Deycke (7) auf den Gedanken, die hohe Toleranz des Choleravibrio gegenüber den Alkalien praktisch zu verwerten und einen Nährboden herzustellen, bei dem sie als elektives Prinzip wirkte. Die Alkalialbuminatgelatine dieses Autors leistete nach dessen Mitteilungen bei der kleinen

Hamburger Choleraepidemie des Herbstes 1893 vorzügliche Dienste. Bei einem optimalen Gehalt an Alkalialbuminat von 2—3 % und einem Zusatz von 1 %, später $^2/_3$ % Kristallsoda wuchsen Choleravibrionen darin sehr üppig, Typhusbazillen und Wasservibrionen — letztere mit Ausnahme des Vibrio Dunbar — gar nicht, und Kolibazillen bisweilen gar nicht, in der Regel sehr spärlich. Obgleich Deycke sich in der Folgezeit (8), (9), (10) eifrig bemühte, seinen Nährboden zu verbessern, bürgerte sich dieser nicht recht ein, hauptsächlich wohl, weil sich bei seiner praktischen Verwendung eine gewisse Ungleichmäßigkeit der Kulturergebnisse bemerkbar machte. Zudem war die Darstellung des Alkalialbuminats, das verwendet werden sollte, technisch nicht leicht. Trotz alledem kann Deycke für sich das Verdienst in Anspruch nehmen, zuerst auf die praktische Verwertbarkeit der Alkalitoleranz des Choleravibrio hingewiesen zu haben. Von ihm rührt auch der Vorschlag her, das gebräuchliche Peptonwasser durch Zusatz von Alkalialbuminat zu modifizieren. Erwähnung verdient hier auch eine Beobachtung Deyckes, die uns für die Erklärung der Wirkung alkalischer Nährböden auf die Vibrionen nicht unwesentlich zu sein scheint, daß nämlich auf der Oberfläche ausgestrichenes Material sich auf seinen Agarplatten vorzüglich entwickelte, während das nicht der Fall war, wenn die Keime in den flüssigen Nährboden gebracht und mit ihm ausgegossen wurden. Dieses exklusive Oberflächenwachstum ist wohl auf eine Abstumpfung der Alkaleszenz, die zuerst und hauptsächlich an der Oberfläche erfolgt, zurückzuführen. Angesichts des erheblichen Sauerstoffbedürfnisses, das den Choleravibrio vor vielen anderen Arten auszeichnet, könnte man vielleicht auch daran denken, daß alkalische Nährböden, deren hohes Bindungsvermögen für Sauerstoff von Hesse ausdrücklich hervorgehoben wird, das Wachstum der Choleravibrionen dadurch besonders begünstigen, daß sie an ihrer Oberfläche eine höhere Spannung dieses Gases bewirken und es so den Mikroorganismen besonders reichlich zuführen.

Hatte Deycke die Frage von rein praktischen Gesichtspunkten aus behandelt, so studierte sie Deeleman (11) mehr von der theoretischen Seite. Wir verdanken diesem Autor eine gründliche Arbeit über den „Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf das Bakterienwachstum“. Es sei hier einiges von dem angeführt, was Deeleman bezüglich der Wirkung von Alkalizusätzen — insbesondere auf Choleravibrionen — beobachtet und mitgeteilt hat:

Zunächst wies er auf die unberechenbaren Verschiedenheiten im Verhalten der Nährböden den verschiedenen Bakterienarten gegenüber hin, die sich ergeben, wenn nach dem Zusetzen des Alkalis die Mischungen noch stark erhitzt werden. Dann stellte er fest: „Die Grenze des Alkalizusatzes kann weiter heraufrücken, wenn man den Eiweißgehalt der Nährböden erhöht.“ Bei seinen Versuchen ergab sich ferner, daß Alkalikarbonat etwas anders wirkt als das entsprechende Hydroxyd, Cholera z. B. Soda erheblich besser verträgt als Ätznatron. Er fand weiter, daß zwei Cholerastämme — „Ostpreußen“ und „Vitze“ — quantitativ etwas verschieden beeinflußt wurden, so zwar, daß bei dem einen das Optimum (durch Keimzählung festgestellt) des Zusatzes 1,95 ccm % N.-Sodalösung bezw. 1,7 ccm % N.-Natronlauge, bei dem anderen 0,78 ccm % N.-Sodalösung bezw. 0,68 ccm % N.-Ätznatronlauge betrug. Aus dem großen

Zahlenmaterial der Deelemanschen Arbeit seien hier einige Angaben aufgeführt, die unserer Ansicht nach besonderes Interesse verdienen:

Deeleman alkalisierte den Nährboden durch Zusatz von Normal-Alkali-Lösungen, beimpfte ihn, goß dann Platten und zählte schließlich die zur Entwicklung kommenden Keime.

Die folgenden, der erwähnten Arbeit entnommenen Ziffern (die dort in anderer Weise zusammengestellt sind) bedeuten die Anzahl der ccm der betreffenden Normallösung auf je 100 ccm des neutralen (Lackmusneutralpunkt) Nährbodens.

Grenzen des Wachstums

	bei Zusatz von Soda		bei Zusatz von Ätznatron	
	Wachstum	Kein Wachstum	Wachstum	Kein Wachstum
Typhus auf Gelatine . .	* 5,85	7,8	3,4	5,1
„ „ Agar	1,95	3,9	1,7	3,4
Bact. coli auf Gelatine . „ „ „ Agar . .	3,9	7,8	3,4	6,8
Cholera auf Gelatine . . .	* 15,6	? (Grenze nicht festgestellt)	3,4	5,1
„ „ Agar	11,7	15,6 nach 4 Tagen (+)	3,4	5,1

Anmerkung: Auf den mit * bezeichneten Platten fanden sich erheblich weniger (1/5—1/10) Kolonien als bei optimalem Zusatz, sonst ist die Keimzahl in der Grenzverdünnung nicht allzu verschieden vom Optimum (mindestens 1/2 der maximalen Keimzahl).

Aus den wenigen hier angeführten Zahlen geht hervor, wie weit mehr Soda der Choleravibrio verträgt als Typhus- und Kolibazillen. Die Unterschiede sind speziell für den mit Soda versetzten Agar so groß, daß es auffällig erscheint, daß niemand die Nutzanwendung zur Gewinnung elektiver Nährböden daraus gezogen hat. Im Gegensatz zu dieser verhältnismäßig hohen Toleranz des Choleravibrio gegenüber Soda steht die erheblich geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber Ätznatron, die sich von der des Typhus- und Kolibazillus kaum unterscheidet. Sodann ergibt sich aus den Zahlen, daß es in manchen Fällen einen großen Unterschied ausmacht, ob man das Alkali dem Agar oder der Gelatine zusetzt.

Nach der Deelemanschen Arbeit wäre noch die von Fermi (12) zu erwähnen, die den Gegenstand streift. Es sei aus ihr eine Angabe hervorgehoben, die nicht recht zu den sonstigen Beobachtungen paßt, daß nämlich zur Wachstumshemmung in gleich großen Nährbodenmengen (Glyzerinagar-Röhrchen) bei Typhus 5, bei Koli 4—9, bei Cholera ebenfalls nur 4 Tropfen Normal-Kalilauge nötig waren.

II.

Der Dieudonné-Agar, seine Herstellung und seine Eigenschaften.

Dieudonné ist zweifellos der erste gewesen, welcher auf Grund der vorliegenden Beobachtungen über die Alkalitoleranz des Choleravibrio zu einem wirklich brauchbaren zuverlässigen Nährboden gelangt ist. Sein Blutalkali-Agar bedeutet nach allem, was bis jetzt über ihn bekannt ist, für die Cholera die Lösung der

Aufgabe, einen spezifischen Nährboden zu finden. Wir haben uns bemüht, ihn genau kennen zu lernen und wollen im folgenden über unsere Beobachtungen berichten.

Dieudonné beschreibt die Herstellung seines Cholera-Agars folgendermaßen:

„Wenn man zu defibriniertem Rinderblut Normalalkalilauge zu gleichen Teilen gibt, so bildet sich eine lackfarbige Blutalkalilösung, die im Dampftopf sterilisiert werden kann. Gibt man von dieser Lösung 30 Teile auf 70 Teile Nähragar, auf gewöhnliche Weise hergestellt und auf den Lackmusneutralpunkt eingestellt ist, so wachsen darauf die Choleravibrionen üppig, während Bac. coli nicht oder nur sehr schwach gedeiht."

„Der Blutalkaliagar, der im Gegensatz zu den sonstigen Alkalialbuminatnährböden sehr einfach herzustellen ist, wird in Schalen ausgegossen, die zum stärkeren Trocknen einige Tage bei 37° oder 5 Minuten auf 60° gestellt werden."

Die Herstellung des Dieudonnéschen Agars nach dieser Vorschrift ist sehr einfach und das ist gerade ein Hauptvorzug des Nährbodens. Dennoch mißlingt sie gelegentlich, wenn man nicht einige Punkte beachtet, die unbedeutend erscheinen, aber für das Gelingen der Kultur maßgebend sind. So erzielten wir bei unseren Versuchen zunächst günstige Ergebnisse, später stellte sich indes eine ganze Reihe von Mißerfolgen ein, über deren Ursachen wir uns erst nach und nach Klarheit verschaffen konnten. Wenn wir im folgenden alle Einzelheiten des von uns als zuverlässig erkannten Verfahrens mit besonderer Ausführlichkeit besprechen, so geschieht das, um den Bakteriologen, die den Dieudonné-Agar benutzen wollen, Fehlschläge zu ersparen und dem vorzüglichen Nährboden den Weg zu ebnen.

Die drei Reagentien, aus denen der Nährboden sich zusammensetzt, sind:

Rinderblut,
Normal-Kalilauge,
Agar.

Obwohl das Blut in seiner chemischen Zusammensetzung nicht konstant ist, sondern vornehmlich bezüglich seiner Fähigkeit, Alkali zu binden, in gewissen Grenzen schwankt, so sind doch die daraus sich ergebenden Ungleichmäßigkeiten des Nährbodens so unbedeutend, daß sie nicht in Betracht kommen, wenn nur sonst alle Vorschriften peinlich genau befolgt werden.

Daß die Normal-Kalilauge sich beim längeren Stehen in Glasflaschen etwas verändert und abschwächt, ist allgemein bekannt. Aber auch hieraus wird sich selten ein Mißlingen ableiten lassen.

Sehr viel größeren und deshalb bedeutungsvollen Schwankungen unterliegt die Beschaffenheit des für die Anfertigung des Dieudonnéschen Nährbodens erforderlichen Agars. Der von uns gewöhnlich benutzte 1,5%ige Agar erwies sich als ungeeignet. Die mit ihm angesetzten Mischungen erstarrten nie ordentlich; im besten Falle ergaben sich Platten mit äußerst weicher Oberfläche, die ohne Verletzung nicht beimpft werden konnten. Nur wenn der 1½%ige Agar sehr lange im Kolben gestanden und durch Verdunsten einen großen Teil seines Wassers verloren hatte, erhielten wir brauchbare Platten. Will man frisch bereiteten Agar verwenden — das wird in der Regel der Fall sein — so muß er 3%ig sein, wie schon Huntemüller in seiner Arbeit angibt. Die Reaktion ist vor seiner weiteren Verwendung auf den Lackmusneutralpunkt einzustellen.

Die Blutalkalimischung soll nach Dieudonnés Vorschrift im Dampftopf sterilisiert werden; Huntemüller läßt sie $^{1}/_{2}$ Stunde darin. Wir haben den Eindruck gehabt, daß es vorteilhaft ist, diese Zeit zu überschreiten und $^{3}/_{4}$ bis 1 Stunde lang zu kochen. Es scheint so, als ob durch das lange Kochen die zu einem Optimum der Alkaleszenz führenden chemischen Umsetzungen, die sonst erst im Laufe längerer Zeit erfolgen und noch nach dem Gießen der Platten Veränderungen des Nährbodens setzen, beschleunigt werden. Daraus dürfte sich eine größere Beständigkeit und Gleichmäßigkeit des Agars ergeben.

Zu 3 Teilen der farbigen Blutalkalilösung sollen nach Dieudonné 7 Teile Agar gesetzt werden. Das geschieht nach unseren Erfahrungen am besten, so lange beide Flüssigkeiten noch kochend heiß sind. Vielfache Abänderungen der Versuchsbedingungen in dieser Beziehung haben uns gelehrt, daß dieser Punkt für den Erfolg keineswegs gleichgültig ist.

Die fertige Blut-Alkali-Agar-Mischung ist möglichst sofort in Petrischalen zu verteilen, da sie eine längere Aufbewahrung in Kolben und ein wiederholtes Neuschmelzen nicht zu vertragen scheint, wogegen sich der in Schalen gegossene Nährboden ziemlich lange — jedenfalls länger als z. B. gewöhnliche Agarplatten — brauchbar hält. Wir pflegen die Platten etwas dicker zu gießen, als sonst üblich ist, und nehmen etwa 15 ccm auf die Petrischale von 10 cm Durchmesser. Auf solche dicken Platten beziehen sich unsere Angaben.

Die Schalen haben, nachdem sie mit Dieudonné-Agar beschickt sind, wenigstens 10′, wenn die Schicht sehr dick ist, wenigstens eine Viertelstunde an einem staubfreien Orte offen zu stehen, damit der Agar während des Erstarrens gut abdampfen kann und sich später möglichst wenig Wasserdampf an den Schalenwandungen ansetzt. Eine Verunreinigung des Nährbodens durch Luftkeime hat man dabei kaum zu befürchten, da nur verschwindend wenig Arten auf ihm zur Entwicklung kommen. Wenn die Schicht ganz fest geworden ist, deckt man die Schalen zu. Dann kommen sie, mit den Deckel nach unten, je nach dem Feuchtigkeitsgehalt etwa 3—10 Stunden in den auf 37° eingestellten Brutschrank. Da sich in dieser Zeit zuweilen, wahrscheinlich bei besonders großem Wasserreichtum des Agars eine schmierige braune Flüssigkeit am Boden des Schalendeckels ansammelt, welche mit dem Rand der in sie eintauchenden eigentlichen Schale einen luftdichten Verschluß bildet, so ist es vorteilhaft, zwischen die Wandungen der Doppelschalen kleine Bäusche von Filtrierpapier zu klemmen. Auf diese Weise wird ein freier Gasaustausch, und damit vielleicht ein Entweichen flüchtiger, das Bakterienwachstum schädigender Stoffe ermöglicht. Genaueres über die Vorgänge im Nährboden während des Abdampfens, die den Agar erst brauchbar machen, wissen wir nicht zu sagen. Sicher scheint uns nur zu sein, daß dabei eine Abstumpfung der Alkaleszenz an der Oberfläche stattfindet, die vielleicht teilweise durch Verdunsten des alkalischen, an sich, speziell für Cholera, unschädlichen Ammoniaks zustande kommt. Haben die Platten so etwa 15—24 Stunden halboffen bei 37° gestanden, so kommen sie am besten noch für 5—10 Minuten ganz offen in den von Zeit zu Zeit kurz gelüfteten 60° Brutschrank. Danach sind sie gebrauchsfertig; auch die dicksten Schichten des Nährbodens dampfen bei dieser Behandlung genügend ab.

Wir müssen nach unseren Erfahrungen davor warnen, die Schalen zu zeitig der hohen Temperatur des 60° Schranks auszusetzen; der Agar verträgt sie im allgemeinen ohne Schaden erst, wenn er bei niedrigerer Temperatur gut abgedampft, seine Alkaleszenz bereits abgestumpft ist. Auf jeden Fall müssen nach dem Gießen einige Stunden verflossen sein.

Der Dieudonnésche Nährboden braucht wenigstens 24 Stunden bis er gebrauchsfertig ist. Hält man sich nicht genau an die oben ausgeführten Vorschriften, so kann es sogar noch erheblich länger dauern, bis man ihn mit Erfolg beimpfen kann. Diese kleine Unbequemlichkeit scheint sich nach Versuchen, die wir neuerdings angestellt haben, vermeiden zu lassen. Wir setzten nämlich unmittelbar vor dem Ausgießen zu Platten zu je 100 ccm des flüssigen Nährbodens etwa 2 ccm 10%iger Milchsäure behufs Bindung des Ammoniaks bezw. zur Neutralisation eines etwaigen Überschusses der nach dem langdauernden Kochen noch ungebundenen Lauge hinzu. Der auf diese Weise zurückneutralisierte Blutalkaliagar kann sofort nach dem Erstarren der Schicht auf einige Minuten in den 60° Schrank gebracht und dann beimpft werden. Leider behalten derartig hergestellte Platten aber nicht ihre elektiven Fähigkeiten für längere Zeit; bereits nach 24—48 Stunden, während deren die Säure im Sinne der Neutralisierung nachzuwirken scheint, sind sie in dieser Beziehung unbrauchbar, da dann die meisten anderen Bakterienarten auf ihnen ebenso gut gedeihen, wie die Choleravibrionen. Sie sind also nur für sofortigen Gebrauch geeignet. Die angegebene kleine Abänderung des Dieudonnéschen Choleraagars dürfte trotzdem für den Gebrauch vielleicht gewisse Vorteile gewähren, wenn es darauf ankommt, auf bequeme Weise aus Cholerámaterial schnell Reinkulturen auf Agar zu gewinnen. Es gelingt nicht, denselben Erfolg — sofortige Brauchbarkeit des Nährbodens — etwa durch Verringerung der Alkalimenge zu erzielen. Der Laugenzusatz muß vielmehr beibehalten werden, wie Dieudonné ihn angegeben hat. Es hat den Anschein, als ob Alkali zunächst beim Kochen erheblich im Überschuß vorhanden sein muß, vielleicht damit möglichst viel Alkalialbuminat gebildet wird. Dieser Stoff dürfte kraft seiner das Wachstum der Choleravibrionen fördernden Eigenschaften im Verein mit dem vielleicht nur kleinen Laugeüberschuß, der die anderen Keime zurückdrängt, die elektiven Fähigkeiten des Dieudonnéschen Nährboden bedingen. Die Milchsäure würde dann möglicherweise einen Teil ungebundenen Alkalis, der nach dem Kochprozeß überflüssig ist, binden, bis der Gehalt des Nährbodens daran ein optimaler ist. Bei der kolloiden Beschaffenheit des Mediums, in welchem diese Reaktionen vor sich gehen, ist anzunehmen, daß die Milchsäure langsam über das Optimum weiter wirkt und schließlich auch den letzten Rest freien Alkalis, der ja gerade die Elektivität bedingt, unwirksam macht.

Auf dem in richtiger Weise hergestellten tiefbraun gefärbten und ganz charakteristisch aromatisch riechenden Dieudonné-Agar wachsen die Choleravibrionen zu dicken, saftigen, in der Aufsicht feuchtgrauen, in der Durchsicht transparenten Rasen aus, während die meisten anderen Bakterien darauf nicht zur Entwicklung kommen. Insbesondere Colibazillen sind auf dem Nährboden bei unseren Versuchen nie gewachsen. Man kann dicke Klumpen von Kot ausstreichen, ohne

daß etwas auskeimt. Wären solchen Fäcesmassen aber auch nur ganz spärliche Choleravibrionen beigemischt, so zeigten sich in kurzer Zeit inmitten der Kotreste auf der Plattenoberfläche die dicken, saftigen Cholerakolonien.

Eine genauere Untersuchung des Kulturmaterials von Dieudonné-Agar hat uns gezeigt, daß die Vibrionen auf dem Nährboden keine ihrer charakteristischen Eigenschaften einbüßen. Selbst nach mehrfach wiederholter Fortzüchtung behielten sie ihre Form, ihre typische Bewegungsart, bewahrten sie ihre kulturellen Merkmale. Die Abschwächung der Agglutinierbarkeit, über die Laubenheimer (13) in einer nach Abschluß unserer Untersuchungen veröffentlichten Arbeit berichtet hat, haben wir bei der Untersuchung an 5 Stämmen ebenfalls beobachtet. Die auf Dieudonné-Agar gewachsenen Vibrionen wurden bei der orientierenden Deckglasprobe von agglutinierendem Serum etwas schwächer beeinflußt als Vergleichskulturen von gewöhnlichem Agar. Der Unterschied war jedoch so gering, daß er für die Praxis kaum störend sein dürfte. Unzuträglichkeiten können sich daraus wohl kaum ergeben, wenn man die Kontrollprobe mit einer Cholerakultur anstellt, die ebenfalls auf Dieudonné-Agar gewachsen ist; das scheint uns wenigstens die richtige Auslegung der betr. Vorschriften der „Anleitung für die bakteriologische Feststellung der Cholera" zu sein.

Die definitive Agglutination der von der Dieudonné-Platte auf gewöhnlichen Agar übertragenen und auf ihm gewachsenen Vibrionen macht keine Schwierigkeiten. Die Ausschläge sind gleich empfindlich, ob ein Stamm Dieudonné-Agar passiert hat oder nicht. Eine Abschwächung der Agglutinabilität besteht nur bei Kulturmaterial, das direkt von Blut-Alkaliagar kommt, und zwar deutlich auch nur bei der orientierenden Deckglasprobe. Bei der Agglutination im Röhrchen mit abgestuften Verdünnungen erhielten wir mit Kulturen von Dieudonné-Agar in der Regel den gleichen Titer wie mit gewöhnlichen Agarkulturen, nur waren die Häufchen in allen Verdünnungen etwas kleiner. Man könnte deshalb vielleicht versuchen, sofort mit dem Material der Dieudonné-Platte — zumeist einer Reinkultur — die definitive Agglutinationsprobe anzustellen; zum Vergleich wäre auch hier eine auf Blutalkaliagar gewachsene Cholerakultur heranzuziehen.

Durch bakteriolytische Sera werden die Vibrionen von Dieudonné-Agar ebenso beeinflußt wie solche von gewöhnlichem Agar. Darin stimmen wir mit Laubenheimer überein.

Außer Cholera — einschließlich der El-Tor-Stämme — wachsen auf Dieudonné-Platten noch viele Arten von Wassservibrionen. Gelegentlich sahen wir auch Luftkokken, einmal auch Kokken aus Fäzes auskeimen, während Huntemüller festgestellt hat, daß auch Pyocyaneus sich auf dem Nährboden zu entwickeln vermag. Jedenfalls ist die Zahl der Bakterienarten, die den schädlichen Wirkungen des Dieudonné-Agars trotzen, so gering, daß man diesem ohne Bedenken und ohne Einschränkung das Prädikat „elektiv" zugestehen muß. In der Praxis ist er allerdings bisher unseres Wissens nicht ausreichend erprobt worden. Immerhin sprechen die Versuche mit künstlich in verschiedener Weise infizierten Stühlen sehr für die praktische Brauchbarkeit des Nährbodens, die bis zu einem gewissen Grade dadurch ge-

währleistet wird, daß die verschiedensten Stämme — ganz alte, lange Jahre im Laboratorium fortgezüchtete, ebenso wie frische — auf ihm gleich gut wachsen. So haben wir 48 Stämme des Gesundheitsamts, darunter neben ganz alten 9 aus der jüngsten russischen Epidemie stammende, auf Dieudonné-Agar ausgezeichnet gedeihen sehen. Auch Huntemüller prüfte eine große Anzahl von Stämmen (etwa 20) mit positivem Erfolg. Man darf danach wohl mit Sicherheit erwarten, daß der Nährboden sich auch natürlichen Cholerafällen gegenüber bewähren wird. Ist das einmal festgestellt, dann muß er neben dem Peptonwasser als eins der wertvollsten Hilfsmittel bei der Choleradiagnose angesprochen werden.

Wir haben versucht, die von Dieudonné angegebene Kalilauge durch andere Alkalien — Ätznatron, Ammoniak — und alkalische Karbonate — Soda, Pottasche — zu ersetzen. Von diesen Stoffen erwies sich die Natronlauge als besonders brauchbar, sie scheint uns sogar eher noch vorteilhafter zu sein als die Kalilauge.

III.
Über Gewinnung elektiver Nährböden durch einfachen Alkalizusatz.

a) Agar mit Alkalizusatz.

Wir haben uns mit der Frage beschäftigt, woher es wohl kommen mag, daß der Dieudonné-Agar in so hohem Grade elektiv wirkt. Es liegt nahe, da in erster Linie an das zugesetzte Alkali zu denken. Wir gingen dann zunächst der Sache in dieser Richtung nach und untersuchten, ob man nicht mit einer einfachen Alkalisierung über das gewöhnliche Maß hinaus zu einem elektiven Nährboden gelangen kann. Solche Versuche führten, wie aus dem Folgenden hervorgeht, zu positiven, wenn auch nicht ganz gleichmäßigen Ergebnissen.

Zunächst beobachteten wir das Verhalten der Bakterien auf Agar, den wir nach der üblichen Neutralisation sehr stark mit Kalilauge alkalisierten. Es seien hier die Protokolle einiger Versuche wiedergegeben.

1.

2%iger Nähragar, auf den Lackmusneutralpunkt gebracht, gießfertig mit steigenden Mengen von Normal-Kalilauge versetzt, zu Platten gegossen und sektorenweise — auf jeder Platte 3 Sektoren, der eine mit Cholera, der zweite mit Bact. coli „Engel", der dritte mit Bact. coli „Gesundheitsamt" — besät.

A. Agar, sofort (am Tage der Alkalisierung) besät:

N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	Einsaat: Cholera „B_5"	Coli „Engel"	Coli „Gesundheitsamt"
3,0	+	+	+
5,0	10 dicke Kolonien, sonst zarter Belag	30 dicke Kolonien, sonst zarter Belag	zarter Belag
5,0	alle drei Bakterienarten gut gewachsen		
6,0 8,0 10,0	nirgends deutliches Wachstum.		

B. Agar, am Tage nach der Alkalisierung besät:

N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	
3,0	alle drei Arten gut gewachsen
4,0	
5,0	
6,0	
8,0	nur Cholera gewachsen.
10,0	

Somit wirkte ein alkalisierter Agar vom zweiten Tage an elektiv gegenüber Cholera, während er, am Bereitungstage selbst beimpft, nicht elektiv war.

2.

1,8 %iger, etwa 2—3 Wochen alter Agar, von Lackmusneutralpunkt, geschmolzen, auf 60° abgekühlt, alkalisiert und zu Platten ausgegossen. Letztere dampfen ¼ Stunde ab, werden nach einigen Stunden bei 60° getrocknet und

A. am nächsten Tage sektorenweis besät.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	Einsaat:		
	Cholera „B_5“	Coli	Typhus
6,0	+ +	+ +	+ +
8,0	+ große Kolonien, aber nur auf einem Teil der bestrichenen Fläche	0	0
10,0	+	0	0

B. Derselbe Agar, alkalisiert in Schalen aufbewahrt und am 3. Tag nach dem Gießen besät.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	Einsaat:		
	Cholera	Coli	Typhus
6,0	+ +	+ +	+ +
8,0	+ +	+ +	+ +
10,0	+	0	0
12,5	+	0	0

C. Derselbe Agar, alkalisiert in Schalen aufbewahrt, am 4. Tag nach dem Gießen besät.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	Einsaat:		
	Cholera	Coli	Typhus
6,0	+ +	+ +	+ +
8,0	0	0	0
10,0	+ +	0	0

D. Derselbe Agar, alkalisiert in Schalen aufbewahrt, am 5. Tage nach dem Gießen besät (Platten gleichmäßig hell, durchsichtig, mit Kristallnadeln durchsetzt).

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	Einsaat:		
	Cholera	Coli	Typhus
6,0	+ +	+ +	+ +
8,0	+ +	0	0
10,0	+ +	+	0
12,5	0	0	0

E. Derselbe Agar, alkalisiert in Kölbchen aufbewahrt, nochmals verflüssigt am 10. Tage nach der Bereitung, ausgegossen. Tags darauf mit künstlich infizierten Cholera-Fäces beschickt:

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Agar	
6,0 10,0	Sehr reichlich Coli gewachsen.

Annähernd dieselben Resultate erhielten wir, wenn wir zur Alkalisierung statt Kalilauge Natronlauge benutzten.

Aus diesen Protokollen kann man gut ersehen, daß der einfach mit Kalilauge stark alkalisierte Agar ebenso wie der Dieudonnésche Blutalkalinährboden erst nach 24 Stunden brauchbar ist und dann elektiv wirkt, daß seine elektiven Fähigkeiten aber allmählich abnehmen. Diese möglicherweise auf zunehmender Bindung des freien Alkalis beruhende Veränderung erfährt, wie es scheint, durch Erhitzen eine Beschleunigung.

Der bezüglich der Elektivität optimale Zusatz von N.-Kalilauge betrug für die von uns benutzten Agarsorten bei einige Tage alten Platten etwa 8 ccm auf 100 ccm Nährboden. Bei diesem Alkaleszenzgrad wuchsen die Choleravibrionen eben noch gut aus. Die Kulturen erreichten aber nicht ganz die Üppigkeit wie auf Dieudonné- oder gewöhnlichem Agar. Das Wachstum erfolgte auch etwas langsamer. Diese Resultate sind entschieden weniger günstig und vor allem viel ungleichmäßiger als die mit dem Blutalkali-Agar erzielten, so daß der einfach alkalisierte Agar für die Praxis des Choleranachweises nicht empfohlen werden kann. Immerhin dürften die berichteten Ergebnisse ein gewisses theoretisches Interesse beanspruchen. Offenbar sind Verschiedenheiten des Agars hier von viel größerer Bedeutung als bei dem Dieudonnéschen Nährboden, wo die Hauptmenge des Alkalis zunächst durch das Blut gebunden wird. Vielleicht erklären sich hieraus die negativen Ergebnisse Huntemüllers mit einfach alkalisiertem Agar (vergl. die Tabelle am Schluß der Huntemüllerschen Arbeit S. 110).

b) Peptonwasser mit Alkalizusatz.

In praktischer Beziehung ist es vielleicht eher von Bedeutung, daß es uns gelang, durch Alkalizusatz die elektiven Fähigkeiten des Peptonwassers zu erhöhen. Als Beleg seien hier auch einige Protokolle von solchen Peptonwasserversuchen wiedergegeben:

1.

Peptonwasserröhrchen zu je 10,0 (Nährboden nach der amtlichen Vorschrift bereitet), alkalisiert, sofort mit 1 Öse Bakterienaufschwemmung (1 Öse Kultur auf 5,0 NaCl) beimpft, nach 20stündigem Wachstum beobachtet.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Peptonwasser	Einsaat:	
	Cholera „B_3“	Coli „Engel“ (beweglich)
0	stark trüb, reichlich typisch. Vibrionen	ziemlich stark trüb
0,1	„ „ „ „ „	„ „ „
0,2	„ „ „ „ „	„ „ „
0,3	„ „ „ „ „	schwach trüb, ziemlich spärlich bewegliche Bakterien
0,4	trüb „ „ „ „ „	klar } in den meisten Gesichtsfeldern keine, in einzelnen unbewegliche Stäbchen
0,5	trüb „ „ „	„ } in den meisten Gesichtsfeldern keine, in einzelnen unbewegliche Stäbchen
0,6	trüb „ Trübung „ „ „	„ einige Stäbchen
0,7	trüb „ Trübung abnehmend „ „ „	„ 0
0,8	trüb „ Trübung abnehmend „ „ „	„ 0
0,9	trüb „ Trübung abnehmend spärliche Vibrionen längere Formen	„ „
	Vibrionen überall sehr beweglich.	

Von diesen Röhrchen wurden Agarplatten ausgestrichen:

Aus allen Cholera-Röhrchen lassen sich reichlich Vibrionen herauszüchten.

Bact. coli: aus Röhrchen 1—6 — Zusatz 0—0,5 — reichlich angekeimt
„ „ 7 — „ 0,6 — 15 Kolonien.
„ „ 8 — „ 0,7 — 6 „

Die Grenze des Wachstums für Cholera wurde nicht festgestellt.

2.

Peptonwasserröhrchen zu je 10,0, alkalisiert mit ½ N.-Kalilauge (umgerechnet), sofort beimpft, nach 20 Stunden beobachtet.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Peptonwasser	Einsaat:		
	Cholera „B_1“	Coli „Engel“	Coli I
0,2	stark trüb	stark trüb	.
0,3	„ „	„ „	.
0,4	„ „	schwächer trüb	.
0,5	„ „	ganz schwach trüb	.
0,6	„ „	klar	.
0,7	„ „	„	klar
0,8	„ „	„	„
0,9	schwächer trüb	„	„
1,0	„ „	„	„
1,5	schwach „	„	„
2,0	klar (n. 3 Tg. trüb)	„	„
2,5	klar	„	„

3.

Peptonwasserröhrchen zu je 10,0, teils alkalisiert, teils nicht alkalisiert, in verschiedener Weise beimpft, nach 6 Stunden von der Peptonwasserfläche aus Agarplatten beimpft.

Alkalizusatz zum Peptonwasser	Einsaat in das Peptonwasser	Befund auf der aus Peptonwasser beimpften Agarplatte	
1. 0,7 ccm % NKOH-Zusatz	wenig Cholera „B₅“	reichlich Cholera	Die mikroskopischen Präparate aus Peptonwasser nach 6 Stunden entsprechen genau dem Befunde der Agarplatten
2. ohne Zusatz		„ „	
3. 0,7 ccm % NKOH-Zusatz	wenig Cholera + viel Coli „Gesundheitsamt“ + Coli „Engel“	sehr viel Cholera, wenig Coli,	
4. ohne Zusatz		viel Coli, weniger Cholera	
5. 0,7 ccm % NKOH-Zusatz	1 Öse Fäces I (Coli + mäßig Cholera)	Cholera rein	
6. ohne Zusatz		viel Cholera, etwa 10 % Coli	
7. 0,7 ccm % NKOH-Zusatz	1 Öse Fäces II (Coli + sehr wenig Cholera)	Cholera rein	
8. ohne Zusatz		etwa gleichviel Coli u. Cholera	
9. 0,7 ccm % NKOH-Zusatz	Fäces II (4 Tropfen)	Cholera, 5 % Coli	
10. ohne Zusatz		mehr Coli als Cholera	

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß sich durch Zusatz von Kalilauge zu Peptonwasser ein für Cholera elektiver Nährboden gewinnen läßt, und daß dieser Nährboden, im Gegensatz zu dem stark alkalisierten Agar, sofort nach Zusatz der Lauge brauchbar ist.

Die folgenden Versuche zeigen jedoch, daß auch im Peptonwasser nach Zusatz der Lauge noch weitere Umsetzungen eintreten, die wiederum zu einer Abstumpfung des Alkalis führen.

4.

Peptonwasserröhrchen zu je 10,0, alkalisiert mit N.-Kalilauge.

A. sofort beimpft.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Peptonwasser	Einsaat:		
	Cholera „B₅“	Coli	Typhus „234“
0,75	+	± (+)	0 (+)
1,0	+	0 (+)	0 (±)
1,5	0 (0)	0	0
2,0	0 (+)	0	0
3,0	0 (0)	0	0

B. nach 24 Stunden beimpft.

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Peptonwasser	Einsaat:		
	Cholera „B₅“	Coli	Typhus „234“
0,75	+	—	± (+) spärl. schlecht bewegl. Bazillen
1,0	+	0 (+)	0 (+)
1,5	+	0 (+)	0 (0)
2,0	+	0 (?)	0
3,0	0	0 (0)	0

C. nach 24 Stunden beimpft,
das alkalisierte Peptonwasser vorher noch 1/2 Stunde im Dampfkochtopf gekocht

Zusatz ccm N.-Kalilauge auf 100 ccm Peptonwasser	Einsaat:		
	Cholera „B_5"	Coli	Typhus „234"
0,75	+	+	0 (+)
1,0	+	0 (+)	0 (+)
1,5	+	0 (+)	0 (+)
2,0	+	0 (±)	0
3,0	± stark bewegl. Vibrionen	0	0

Anm. Die eingeklammerten Zeichen beziehen sich auf Befunde bei Betrachtung nach 48 Stunden.

Aus unsern Versuchen ergibt sich also, daß durch stärkere Alkalisierung des gebräuchlichen Peptonwassers mit Kalilauge infolge Zurückdrängung der Kolibazillen eine bessere Anreicherung an Choleravibrionen erzielt werden kann. Auch hier findet allmählich eine Abstumpfung der Alkaleszenz statt, die durch Kochen beschleunigt wird. Daher muß, falls die Röhrchen sofort benutzt werden sollen, erheblich weniger Alkali als bei beabsichtigter Benutzung nach 24 Stunden zugesetzt werden: in ersterem Fall etwa 0,7—0,8 N.-Kalilauge auf 100,0 Peptonwasser, in letzterem etwa 1,0—1,5.

Auch hier erwies sich die Natronlauge als ebenso brauchbar wie Kalilauge. Selbst Versuche mit Ammoniak ergaben kein ungünstiges Resultat, indem sich herausstellte, daß Cholera davon in Peptonwasser etwa doppelt so viel verträgt als Kolibazillen.

Wir haben auch Versuche angestellt, bei denen dem Peptonwasser verschiedene Mengen Dieudonnéscher Blutalkalimischung zugesetzt wurden. Ein so hergestellter Nährboden hat aber kaum Vorzüge gegenüber dem einfach alkalisierten Peptonwasser.

Von dem stark alkalisierten Peptonwasser ließe sich vielleicht in der Praxis Gebrauch machen, namentlich wenn Dieudonné-Agar nicht zur Hand ist. Es würde sich dann vielleicht empfehlen, neben den gewöhnlichen Peptonröhrchen noch einige mit Zusatz von Kalilauge, wie oben angegeben, anzusetzen. Über die praktische Brauchbarkeit des Verfahrens können selbstverständlich erst ausgedehnte Versuche in der Praxis Auskunft geben; unsere Versuche haben jedenfalls die prinzipielle Möglichkeit einer Steigerung der elektiven Eigenschaften des Peptonwassers durch Alkalizusatz dargetan.

Literatur.

1. A. Dieudonné, Blutalkaliagar, ein Elektivnährboden für Choleravibrionen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Bd. L, 1909, Heft 1, S. 107—108.

2. Huntemüller, Der Dieudonnésche Blut-Alkali-Agar. Ebenda S. 109—110.

3. Woithe, Demonstrationen: Elektive Choleranährböden. Berliner Militärärztl. Gesellschaft 21. Mai 1909. (Referat in der Militärärztl. Zeitschr., Vereinsbeilage.) — 81. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte, Salzburg 21. September 1909.

4. Kitasato, Über das Verhalten der Typhus- und Cholerabazillen zu säure- und alkalihaltigen Nährböden. Zeitschr. f. Hyg. III, 1888, S. 404.

5. Arens, Münch. med. Wochenschr. 1893, S. 190.

6. W. Hesse, Über den Einfluß der Alkaleszenz des Nährbodens auf das Wachstum der Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XV, 1893, S. 183 ff.

7. H. Deycke, Über einen neuen elektiven Nährboden für Cholerabazillen. Deutsche med. Wochenschr. 1893, S. 888.

8. Derselbe, Die Benutzung von Alkalialbuminaten zur Herstellung von Nährböden. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Bd. XVII, 1895, S. 241 ff.

9. Derselbe, Weitere Erfahrungen über die Benutzung von Alkalialbuminaten zur Herstellung von Nährböden. Deutsche med. Wochenschr. 1894, S. 528.

10. Deycke und Voigtländer, Studien über kulturelle Nährböden. Zentralbl. f. Bakt. 1901, Bd. XXIX, S. 617 ff.

11. M. Deeleman, Der Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf das Bakterienwachstum. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XIII, 1897, S. 374 ff.

12. Cl. Fermi, Die Mineral- und organischen Säuren, die Alkali usw. zur Differenzierung der Mikroorganismen. Zentralbl. f. Bakt. XXIII, 1898, S. 208 ff.

Nach Abschluß vorliegender Arbeit erschienene Veröffentlichungen:

13. K. Laubenheimer, Der Dieudonnésche Blutalkaliagar als Elektivnährboden für Choleravibrionen. Zentralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. LII, Heft 2.

14. J. Hachla und Th. Holobut, Beitrag zur Frage elektiver Nährböden für Choleravibrionen. Ebenda.

15. A. Sineff und R. Drosdowitsch, Prof. Dieudonnés Blutalkaliagar, ein neuer Nährboden für die bakteriologische Diagnose der Cholera. Zentralbl. f. Bakt. I. Orig. LII, Heft 3.

Nachweis der Typhusbazillen im Blute durch Anreicherung in Wasser[1].

Von

Oberarzt **Dr. E. Gildemeister,**

kommandiert zum Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Der Nachweis der Typhusbazillen im Blute von Typhuskranken bereitete zuerst große Schwierigkeiten, bis es Castellani (1) und Schottmüller (2) gelang, durch sofortige Verdünnung des Blutes nach der Entnahme mit Bouillon bezw. mit Agar in zahlreichen Fällen Typhusbazillen zu züchten. Vorher hatte bereits Neufeld (3) auf Grund seiner Untersuchungen an Roseolen darauf hingewiesen, daß, um die Blutkultur zu ermöglichen, die bakterizide Wirkung des Blutes durch ausgiebige Verdünnung aufgehoben werden müsse. So schön die Resultate Castellanis und Schottmüllers auch waren, so gelangten ihre Untersuchungsmethoden doch nicht zur allgemeinen Einführung, weil sie am Krankenbett ausgeführt werden müssen und nicht einfach genug sind. In der Hauptsache stützte sich auch fernerhin die Typhusdiagnose auf den Nachweis der spezifischen Erreger im Stuhl und auf den Ausfall der Widalschen Reaktion.

Conradi (4) gebührt das Verdienst, die Blutuntersuchung auf Typhusbazillen durch die Blutgallekultur wesentlich vereinfacht zu haben. Kayser (5) konnte dann an einem großen klinischen Material den Wert der Blutgallekultur nachweisen. Er konnte ferner feststellen, daß die Typhusbazillen konstant zu Beginn der Krankheit im Blute kreisen und erst allmählich im weiteren Verlauf der Erkrankung aus ihm verschwinden. Damit war die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute der Erkrankten als sicheres und bestes Hilfsmittel für die Frühdiagnose des Typhus erwiesen. In gewisser Hinsicht störend war allerdings noch der Umstand, daß die Beschickung des Galleröhrchens mit Blut ebenfalls am Krankenbett selbst vorgenommen werden mußte. Erst als dann Fornet (6) und später auch Conradi (7) feststellen konnten, daß bei der Blutgerinnung die Typhusbazillen in den Blutkuchen übergehen, und es möglich ist, auch aus den Blutgerinnseln der zur Vornahme der Widalschen Reaktion eingesandten Blutproben mittels des Galleverfahrens noch Typhusbazillen zu züchten, war die allgemeinere Anwendbarkeit der Blutgallekultur gegeben.

---

[1]) Auszugsweise Mitteilungen wurden in der Sitzung der Berliner militärärztlichen Gesellschaft vom 21. Januar 1910 gemacht.

Es ist zwar Sachs-Müke (8) zuzugeben, daß der größere Teil der Typhuserkrankungen erst zu einer Zeit in ärztliche Beobachtung gelangt, wo die Widalsche Reaktion bereits positiv ausfällt; trotzdem hat aber die Blutkultur doch für die Frühdiagnose die größte Bedeutung und sollte neben der Widalschen Reaktion möglichst in jedem Falle ausgeführt werden, zumal ihre Anwendung so einfach ist.

Müller und Gräf (9) züchteten Typhusbazillen aus Blutresten in der Weise, daß sie dieselben zerkleinerten und auf Platten verrieben. Sie erzielten gute Resultate. Sachs-Müke (8) fand aber bei einem Vergleich der Blutgallekultur mit der von Müller und Gräf angegebenen Methode, daß erstere bei 131 sicheren Typhusfällen 22,1 % positiver Resultate lieferte, letztere dagegen nur 4,6 %. Unter Berücksichtigung der minimalen Blutmengen, die Sachs-Müke verwandte, und der Tatsache, daß die meisten Blutproben in eine für den Bazillennachweis aus dem Blute an und für sich ungünstige Krankheitswoche fielen, ist das Ergebnis der Blutgallekultur auch bei seinen Untersuchungen als ein recht günstiges anzusehen. Noch bessere Resultate erzielten mit dieser Methode Fornet (6), der 73 %, und Conradi (7), der 40 % positiver Blutbefunde hatte.

Bei allen Vorzügen, die die Blutgallekultur besitzt, dürfen jedoch die Mängel, die ihr anhaften nicht übersehen werden. Die Galle ist eine Körperflüssigkeit und deshalb nie von gleichmäßiger Beschaffenheit. Sie schwankt recht beträchtlich in ihrer chemischen Zusammensetzung und diese Schwankungen hängen ab von dem Ernährungszustande des Tieres, von dem Alter, von der Art des Futters und von dem Verdauungsstadium, in dem sich das Tier zur Zeit der Schlachtung befand. Schon makroskopisch sind an der Galle verschiedener Tiere (Rinder) Unterschiede erkennbar. Die Farbe der Rindergalle schwankt zwischen braun und grasgrün. Es gibt dickflüssige und dünnflüssige Galle. Sie kann klar sein, sie kann auch getrübt sein. Sie gibt beim Sterilisieren Niederschläge oder sie bleibt völlig klar. Nach Landois (10) schwankt der Wassergehalt der menschlichen Galle zwischen 82 und 91 %, der Gehalt an gallensauren Salzen zwischen 6 und 11 % (!) und an Muoin zwischen 1 und 3 %. Bei der Rindergalle werden ähnliche Verhältnisse vorliegen. Derartige Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung können nicht ohne Einfluß auf die Blutgallekultur sein. Zu berücksichtigen ist ferner, daß sterilisierte Rindergalle bei längerem Aufbewahren Veränderungen erleidet. Ich (11) habe früher auf einen Fall hingewiesen, wo ein am Krankenbett beschicktes, älteres, von der Firma Merck bezogenes Galleröhrchen kein Wachstum von Typhusbazillen ergab, während es mir gelang, aus dem Blutkuchen einer zur gleichen Zeit entnommenen Blutprobe in frischer Galle Typhusbazillen zu züchten. Schließlich darf nicht unerwähnt bleiben, daß Galle im Laboratorium auch gelegentlich fehlen kann und Ersatz nicht immer sofort zur Stelle ist.

Die Wirkung der Galle beruht nach Conradi darin, daß sie Blut auflöst und antibakterizide Eigenschaften besitzt, was von Eppenstein und Korte (12) bestätigt wurde. Ein elektiver Nährboden ist die Galle für Typhusbazillen jedenfalls keineswegs, denn es wachsen in ihr auch zahlreiche andere Bakterien zum Teil sogar erheblich besser als Typhusbazillen. Die blutauflösend wirkenden Bestandteile der Galle bilden die gallensauren Salze, die, wie Meyerstein (13) nachgewiesen hat, für sich

bereits den Nachweis der Typhusbazillen im Blut gestatten. Die gallensauren Salze werden in Glyzerin in Lösung gebracht und werden dem Blute zugesetzt. In diesem Falle muß also den auskeimenden Typhusbazillen das aufgelöste Blut als Nährboden dienen und neben der komplementbindenden Wirkung der gallensauren Salze hat sonach die Blutauflösung ebenfalls eine erhebliche, vielleicht ausschlaggebende Bedeutung.

Ist dies der Fall, so war die Möglichkeit vorhanden, auch mit anderen blutlösenden Stoffen die Isolierung und Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute zu erreichen. Das einfachste Mittel, das uns in dieser Hinsicht zur Verfügung steht, ist destilliertes Wasser und je nach seiner Beschaffenheit unter Umständen auch Leitungswasser. Ich versuchte daher die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blut, indem ich die Galle zunächst durch destilliertes Wasser ersetzte. Die Blutauflösung geht im destillierten Wasser schneller vor sich als in der Galle. Außerdem hat es vor der Galle den Vorteil, daß es in jedem Laboratorium vorhanden, stets von derselben Zusammensetzung und sterilisiert lange Zeit haltbar ist, sowie so gut wie nichts kostet. Bisher habe ich die Blutreste von 15 Blutproben von Typhuskranken untersucht und zwar 12 mit der Blutgallekultur und mit der Blutwassermethode, 2 nur mit der Wassermethode, weil mir am Tage dieser Untersuchungen Galle nicht zur Verfügung stand. In 9 Fällen gelang der Bazillennachweis weder mit der einen noch mit der anderen Methode. Es handelte sich hier aber um Fälle, die dicht vor der Entfieberung standen und daher für Züchtungsversuche der Bazillen aus dem Blut nicht besonders geeignet waren. Das Resultat der 6 positiven Fälle ist aus der nachstehenden Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I.

Name	Blutgallekultur	Blutwasserkultur	Widalsche Reaktion
1. Ke.	+ + +	+ + +	+
2. Kr.	+ + +	+	+
3. Fo.	+ + +	+ + +	+
4. Sp.	—	+	+
5. St.	nicht ausgeführt	+ n. 24 St. + + + n. 48 St.	—
6. H.	nicht ausgeführt	+ + +	+

Außerdem ist es mir gelungen, bei vier an Schweinepest erkrankten Schweinen den Bacillus suipestifer aus dem Blute mittels der Wasserkultur zu isolieren.

Die Blutmengen, die mir von Menschen zur Verfügung standen, betrugen mehrere Kubikzentimeter. Ich habe mich aber stets mit der Verarbeitung eines Teiles des Blutkuchens begnügt. Bei den Schweinen verwendete ich den Blutkuchen von 1 ccm Blut.

Was nun die Ausführung der Untersuchung betrifft, so ist sie dieselbe wie bei der Blutgallekultur. Der Blutrest wird mit einer sterilen Schere möglichst fein zerkleinert, die zerkleinerten Blutmassen werden mit einer Pinzette oder dem Löffelchen eines Stuhlentnahmegefäßes in ein steriles Reagenzglas gebracht. Der beim Zerkleinern

des Blutrestes ausgetretene Blutsaft wird mit einer sterilen Pipette aufgesaugt und ebenfalls zur Züchtung benützt. Die Menge des destillierten Wassers, die für das einzelne Blutröhrchen erforderlich ist, richtet sich nach der Größe des Blutrestes. Es empfiehlt sich zur Verarbeitung des Blutrestes die 8—10fache Menge destillierten Wassers zu nehmen. Da das aufgelöste Blut als Nährboden für die Typhusbazillen dienen muß, erscheint es mir zweckmäßig, bei kleinen Blutmengen den Nährboden nicht zu sehr zu verdünnen. Das beschickte Röhrchen wird mehrfach gründlich umgeschüttelt und gelangt in den Blutschrank bei 37°. Es empfiehlt sich, das Blutwasserröhrchen, nachdem es eine Stunde oder länger im Blutschrank gestanden hat, nochmals gründlich zu schütteln, um die Hämolyse zu beschleunigen. Von diesen Röhrchen werden am nächsten Tage je 3—5 Ösen auf eine gewöhnliche Agar- und eine Drigalski-Platte ausgestrichen. Da das Blut nicht immer steril in die Hände des Untersuchers gelangt, so wachsen des öfteren in dem Röhrchen auch Verunreinigungen, die auf der Drigalski-Platte dann weniger zahlreich auskeimen als auf der Agarplatte. Auf der Agarplatte hinwiederum gelangen Typhusbazillen bei geringem Vorhandensein zahlreicher zum Wachstum als auf der Drigalski-Platte. Ist nach 24stündiger Bebrütung des Blutwasserröhrchens kein Wachstum eingetreten, so muß nach 48stündiger Bebrütung ein neuer Ausstrich vorgenommen werden.

Um nun zu sehen, ob es auch möglich ist, aus kleinsten Blutmengen mit der Blutwasserkultur Typhusbazillen zu züchten, machte ich, da mir Typhusblut von Menschen nicht weiter zur Verfügung stand, folgenden Versuch. Ich spritzte zwei Kaninchen in die Randvene des linken Ohres je 1/2 Öse 24stündiger Typhus-Agarkultur und entnahm hierauf nach verschiedenen Zeiten Blut in verschiedenen Mengen aus dem rechten Ohre. Ich ließ das Blut gerinnen, verarbeitete es nach 24 Stunden mit destilliertem Wasser und machte nach 24stündiger Bebrütung des Blutwassers Plattenausstriche. Das Resultat dieser Untersuchungen zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Wie lange nach der Einspritzung entnommen	Anzahl der verarbeiteten Blutstropfen	Menge des zugesetzten destillierten Wassers ccm	Züchtungsergebnis bei	
			Kaninchen I	Kaninchen II
10 Minuten	1	2	+	+ + +
10 „	2	2	+ + +	+ + +
10 „	4	3	—	+ + +
10 „	8	4	+ + +	+ + +
10 „	12	5	+ + +	+ + +
10 „	20	10	+ verunreinigt	+ + +
1 Stunde	20	10	nicht ausgeführt	+ + +
2 Stunden	20	10	nicht ausgeführt	+ + +
3 Stunden	20	10	nicht ausgeführt	+ + +

Es gelang somit aus kleinsten Mengen geronnenen Blutes Typhusbazillen zu isolieren.

Ich benutzte diesen Versuch zugleich, um festzustellen, ob auch Leitungswasser sich ebenso wie destilliertes Wasser verwenden läßt.

Tabelle III.

Wie lange nach der Einspritzung entnommen	Anzahl der verarbeiteten Blutstropfen	Menge des zugesetzten Leitungswassers ccm	Züchtungsergebnis bei Kaninchen I
10 Minuten	8	4	+ + +
10 „	12	5	+ + +
10 „	20	10	(verunreinigt)

Es zeigte sich also — abgesehen von den verunreinigten Röhrchen — daß Leitungswasser, vorausgesetzt, daß es hämolytische Eigenschaften besitzt, wie destilliertes Wasser verwandt werden kann.

Schließlich kam es noch darauf an, die beiden Tierversuche dahin auszunützen, ob die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute auch gelingt, wenn man das Blut direkt in destilliertes Wasser oder Leitungswasser tropfen läßt.

Bei letzteren Versuchen hatte ich sowohl mit Menschen- wie mit Kaninchenblut folgende Beobachtung gemacht. Es bildet sich im Laufe einer Stunde, nachdem das Blut dem destillierten Wasser oder dem Leitungswasser zugesetzt ist, durch Ausscheidung von Fibrin eine feine, fast die ganze Flüssigkeitssäule ausfüllende Gallerte. Schüttelt man dann das Röhrchen kräftig, so wird die Gallerte gesprengt. Das Fibrin schwimmt in kleinen Flocken in der Flüssigkeit. Meine Versuche am Kaninchen ergaben nun, daß es gelingt, sowohl mit destilliertem Wasser wie mit Leitungswasser aus kleinsten Mengen bei direkter Einsaat des Blutes ins Wasser Typhusbazillen zu isolieren (s. Tab. IV u. V).

Tabelle IV.

Untersuchungen am Kaninchen bei direkter Einsaat des Blutes in destilliertes Wasser.

Wie lange nach der Einspritzung entnommen	Anzahl der verarbeiteten Blutstropfen	Menge des destillierten Wassers ccm	Züchtungsergebnis bei	
			Kaninchen I	Kaninchen II
10 Minuten	1	2	+	+ + +
10 „	2	2	+ +	+ + +
10 „	4	3	+	+ + verunreinigt
10 „	8	4	+	+ + +
	12	5	+ + +	+ + +
1 Stunde	20	10	nicht ausgeführt	+ + +
2 Stunden	20	10		+ + +
3 „	20	10		+ + +

Tabelle V.

Untersuchungen am Kaninchen bei direkter Einsaat des Blutes in Leitungswasser.

Wie lange nach der Einspritzung entnommen	Anzahl der verarbeiteten Blutstropfen	Menge des Leitungswassers ccm	Züchtungsergebnis bei Kaninchen II
10 Minuten	1	2	+ + +
10 „	2	2	+ + +
10 „	4	3	+ + +
10 „	8	4	+ + verunreinigt
10 „	15	5	+ + +

Trotz des kleinen Umfanges meiner Untersuchungen glaube ich auf Grund der von mir erzielten günstigen Resultate destilliertes Wasser sowohl wie Leitungswasser, soweit es hämolytische Eigenschaften besitzt, als Ersatz der Galle bei der Typhusblutkultur empfehlen zu können.

Zum Schluß möchte ich mir eine Bemerkung über die eingesandten Blutproben und die dazu benutzten Glasgefäße gestatten. Im Typhusbekämpfungsgebiet des Westens des Reiches und auch anderweitig werden wohl meist Kapillarröhrchen zur Aufnahme des Blutes verwandt. Fassen die Kapillarröhrchen an und für sich schon nur sehr geringe Blutmengen, so fallen dieselben in der Praxis meist noch geringer aus, da die Anwendungsweise der Kapillaren nicht einfach genug ist, um in jedem Falle eine vollständige Füllung des Röhrchens zu erzielen. Ein großer Teil der Kapillarröhrchen kommt nur zur Hälfte oder zum Drittel mit Blut gefüllt zur Untersuchung. Nach meinen Erfahrungen, die ich am Hygienischen Institut in Posen zu machen Gelegenheit hatte, lassen sich diese Übelstände vermeiden, wenn man den Ärzten Glasröhrchen nach Art der Gefäße, wie sie zum Versand von Lymphe üblich sind, zur Verfügung stellt. Sie haben einen Fassungsraum von mindestens 2 ccm und eine genügend breite Öffnung, so daß das Blut aus der Einstichstelle bequem hineintropfen kann. Auf diese Weise erhält man wenigstens von einem großen Teil der Einsender 0,5 ccm bis 1 ccm Blut.

Literaturverzeichnis.

1. Castellani, s. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann 1903. Bd. II, S. 249—251.

2. Schottmüller s. ebendaselbst.

3. Neufeld, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. 30, S. 508—510.

4. Conradi, Ein Verfahren zum Nachweis der Typhuserreger im Blut. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 2.

4a. Derselbe, Über Züchtung von Typhusbazillen aus dem Blut mittels Gallekultur. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 34.

5. Kayser, Über die einfache Gallenröhre als Anreicherungsmittel und die Bakteriologie des Blutes bei Typhus sowie Paratyphus. Münchener med. Wochenschr. 1906, S. 823.

5a. Derselbe, Weiteres über die Verwendung der Gallenröhre zur Blutkultur. Münchener med. Wochenschr. 1906, S. 1953.

5b. Kayser, Zur Frühdiagnose und Bakteriologie des Typhus sowie Paratyphus. Zentralblatt für Bakt. Abt. I. Orig. 1906, Bd. 42, S. 185.

6. Fornet, Ein Beitrag zur Züchtung von Typhusbazillen. Münchener med. Wochenschr. 1906, S. 1862.

7. Conradi, Zur bakteriologischen Frühdiagnose des Typhus. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 40.

8. Sachs-Müke, Vergleichende Untersuchungen über die Typhusbazillenzüchtung aus kleinsten Blutgerinnseln vermittels der Gallenanreicherung und des direkten Plattenaustrichs. Klinisches Jahrbuch Band 21, Heft 2, S. 233.

9. Müller und Gräf, Nachweis der Typhusbazillen in eingesandten Blutproben. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 2.

10. Landois, Lehrbuch der Physiologie des Menschen. 1905, S. 326.

11. Gildemeister, Über den Nachweis der Typhusbazillen im Blute mittels der Gallenanreicherung. Hygienische Rundschau 1907, S. 397.

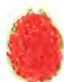
12. Eppenstein und Korte, Über das Verhalten der im Blute der Typhuskranken nachweisbaren Typhusbazillen gegenüber der bakteriziden Wirkung des Blutes. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 24.

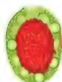
13. Meyerstein, Über Typhusanreicherung. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 38.

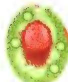
13a. Derselbe, Zur Frühdiagnose des Typhus. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 44.

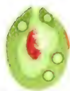
Ende des 3. Heftes.
Abgeschlossen am 5. Februar 1910.

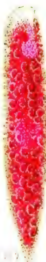
Druck von E. Buchbinder in Neu-Ruppin.

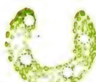


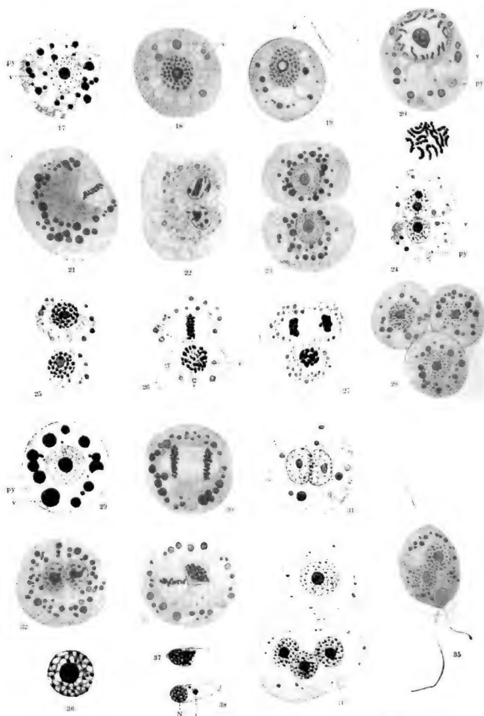












Verlag von Julius Springer in Berlin.

Fig 1. Gelatineplatte, g e g o s s e n mit 0,03 ccm Spreewasser, nach 24 Stunden bei 22°.

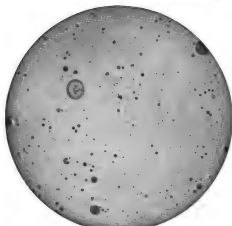


Fig 2. Gelatineplatte, b e s p r ü h t mit 0,017 ccm Spreewasser nach 24 Stunden bei 22°.

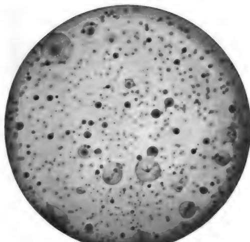


Fig. 3. Gelatineplatte, b e s p r ü h t mit Spreewasser, nach 48 Stunden bei 22°.

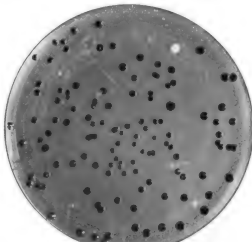


Fig. 4. Aufschwemmung von B. prodigiosus in Wasser, auf Agar v e r s p r ü h t nach 48 Stunden bei 22°.

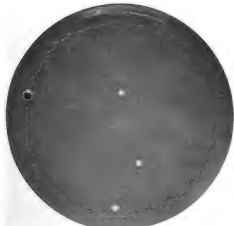


Fig. 5. Agarplatte, g e g o s s e n mit 0,05 ccm durch Sandfilter filtriertem, mit B. prodigiosus vermischtem Spreewasser, nach 40 Stunden bei 22°.

Fig. 6. Agarplatte, b e s p r ü h t mit 0,037 ccm durch Sandfilter filtriertem, mit B. prodigiosus vermischtem Spreewasser, nach 40 Stunden bei 22°.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

Fig. 1

Fig. 2.

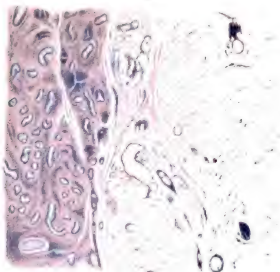
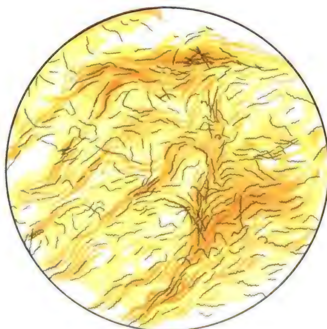
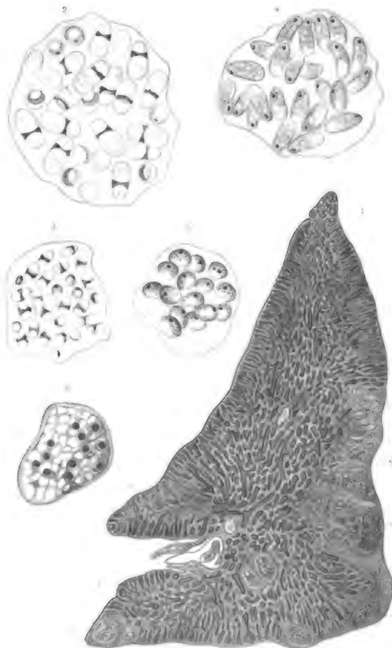


Fig. 3.



Verlag von Julius Springer in Berlin.

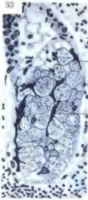
Kgl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A. G.


2
1

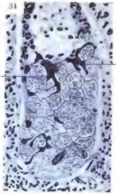
7
p
k
8
p
k
9
k
p
m
10
m
p
m
11
k
12
k
13
k
14
p
15
m
16
k
17
p
18
p
19
p
20
k
21
k
22
k
23
k
24
k
25
k
26
k
27
p
28
p
29

32

33

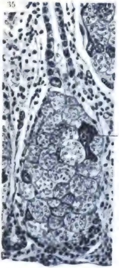


34

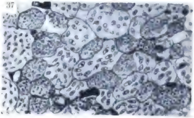


36

35



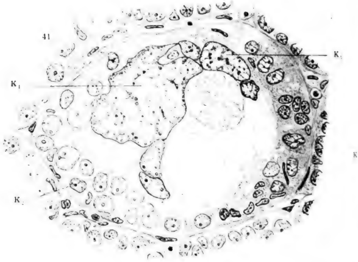
37

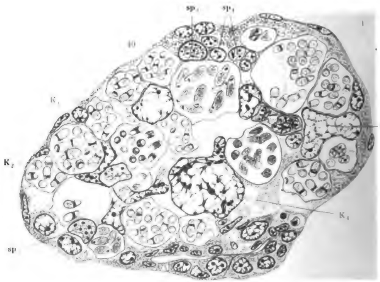


A. Schuberg fec. Lichtdruck von Albert Frisch, Berlin W 35.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

Digitized by Google



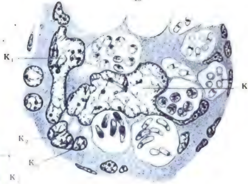


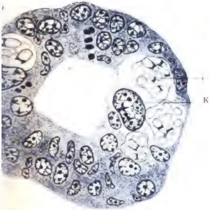
A. Schuberg fec.

Verlag vo

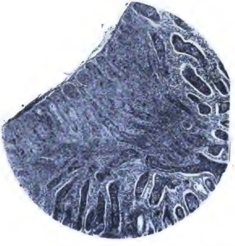
38

43





44



Lichtdruck von Albert Frisch, Berlin W 35.

ringer in Berlin.

ARBEITEN

AUS DEM

KAISERLICHEN GESUNDHEITSAMTE.

(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes.)

DREIUNDDREISSIGSTER BAND.

DRITTES (SCHLUSS-) HEFT.

BERLIN.
VERLAG VON JULIUS SPRINGER.
1910.

(Ausgegeben im Februar 1910.)

Inhalts-Verzeichnis.

Fortsetzung auf Seite 2.

suchungen zur Epidemiologie des europäischen Rückfallfiebers.
10. Dr. E. Baumann, Beitrag zur Kenntnis der typhusähnlichen Bazillen.
11. Dr. Haendel und Dr. Hüne, Konservierung agglutinierender Sera.
12. Dr. Weidanz, Über die Konservierung präzipitierender Sera.
13. Dr. Uhlenhuth und Dr. Wolthe, Experimentelle Untersuchungen über Dourine mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. (Nachtrag und Schlußbericht.)
14. Dr. Manteufel und Dr. Wolthe, Über die diagnostische Bedeutung der Komplementbindungsreaktion bei Trypanosomeninfektionen.

Dreißigster Band. — Mit 6 Tafeln und Abbildungen im Text. — Preis M. 26,80.

1. Dr. J. Brode und Dr. W. Lange, Beiträge zur Chemie des Essigs mit besonderer Berücksichtigung seiner Untersuchungsverfahren.
2. Dr. E. Baur und Dr. H. Barschall, Über die Bestimmung des Fettes im Fleisch.
3. Dr. E. Baur, Über die Bestimmung des Zuckers im Fleisch.
4. Dr. H. Barschall, Über Krabbenextrakt.
5. Dr. K. Beck, Über die Bestimmung und den Gehalt von Schwefelsäure in der Luft von Akkumulatorenräumen.
6. Dr. W. Fulda, Die Absorption des Schwefeldioxyds in Wasser.
7. Dr. B. Pfyl, Über die Untersuchung natriumsuperoxydhaltiger Waschmittel.
8. Dr. R. Heise, Die staubbindenden Fußbodenöle, ihre Zusammensetzung, Eigenschaften und Verwendbarkeit in Buchdruckereien und Schriftgießereien.
9. Dr. F. Auerbach und Dr. Ing. W. Plüddemann, Maßanalytische Bestimmung von Ameisensäure und ihren Salzen.
10. Dr. F. Auerbach und Dr. Ing. W. Plüddemann, Über den Verlust an Formaldehyd bei der Desinfektion mit Autan.
11. Dr. Uhlenhuth, Dr. Hübener, Dr. Xylander, Dr. Bohtz, Weitere Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest mit besonderer Berücksichtigung der Bakteriologie der Hogcholera- (Paratyphus B-) Gruppe sowie ihres Vorkommens in der Außenwelt.
12. Dr. W. Rimpau, Beitrag zur Frage der Verbreitung der Bazillen der Paratyphusgruppe.
13. Dr. H. E. Kersten, Über die Haltbarkeit der Diphtherie- und Paratyphus B-Bazillen in der Milch.
14. Dr. C. Schellack, Versuche zur Übertragung von Spirochaeta gallinarum und Spirochaeta Obermeieri.
15. Dr. Haendel, Über den Zusammenhang von immunisierender Wirkung, Virulenz und Bindungsvermögen bei Cholerastämmen.
16. Dr. C. Schellack, Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochaeten aus Muscheln. Mit 6 Tafeln.
17. Dr. Dieterlen, Über Pseudotuberkulose bei Meerschweinchen, verursacht durch den Bac. Paratyphi B.
18. Dr. Uhlenhuth und Dr. Weidanz, Mitteilungen über einige experimentelle Krebsforschungen.
19. Dr. O. Weidanz, Über einen Brutschrank für Hämolyse-Versuche.
20. Dr. P. Andrejew, Über Anaphylaxie mit Eiweiß tierischer Linsen.
21. Dr. Spitta u. Dr. Pleißner, Neue Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung und Kontrolle von Wässern.
22. Dr. M. Pleißner, Über die Messung und Registrierung des elektrischen Leitvermögens von Wässern mit Hilfe von Gleichstrom.
23. Dr. R. Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Basel-Mainz (vom 4.—16. Juli 1907).
24. Dr. M. Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis Coblenz (vom 9.—16. Juli 1907).
25. Dr. K. Schern, Über eine durch den Bazillus enteritidis Gärtner hervorgerufene Rattenseuche.
26. Dr. Klinger, Epidemiologische Beobachtungen bei der Typhusbekämpfung im Südwesten des Reichs.
27. Dr. W. Gaehtgens, Über das Vorkommen der Paratyphusbazillen (Typus B) im Wasser.
28. Dr. Brückner, Typhusinfektion durch Abortgrubeninhalt.
29. Dr. Manteufel, Beiträge zur Beurteilung des „Krebspestbazillus" (Hofer u. Albrecht).
30. Dr. K. Keiser, Beiträge zur Chemie des Honigs mit besonderer Berücksichtigung seiner Unterscheidung von Kunsterzeugnissen.

Einunddreißigster Band. — Heft 1. — Mit 5 Tafeln und Abbildungen im Text. — Preis M. 16,40.

Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Schlafkrankheit im Jahre 1906/1907 nach Ostafrika entsandten Kommission.

Zweiunddreißigster Band. — Mit 8 Tafeln und Abbildungen im Text. — Preis M. 25,40.

1. Dr. B. Pfyl und Dr. P. Rasenack, Über die Verpuffungs- und Verbrennungsprodukte von Zelluloid.
2. Prof. Dr. R. Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 6. biologischen Untersuchung des Oberrheins auf der Strecke Basel-Mainz (vom 15. bis 30. November 1907).
3. Prof. Dr. M. Marsson, Bericht über die Ergebnisse der vom 29. November bis 7. Dezember 1907 ausgeführten 6. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis Coblenz.
4. Dr. W. Kerp und Dr. P. Wöhler, Zur Kenntnis der gebundenen schwefligen Säuren. IV. Abhandlung: Über die Verbindungen der schwefligen Säure mit dem Citronellal und dem Zimtaldehyd.
5. Dr. W. Kerp und Dr. P. Wöhler, Zur Kenntnis der gebundenen schwefligen Säuren. V. Abhandlung: Über Sulfitzellulose-Ablauge und furfurolschweflige Säure.
6. Dr. W. Lange, Über den Gehalt der Handelsgelatine an schwefliger Säure.
7. Prof. Dr. Uhlenhuth und Dr. Xylander, Untersuchungen über „Antiformin", ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. Mit 1 Tafel.
8. Dr. J. Fiehe, Über den Nachweis von Stärkesirup im Honig und in Fruchtsäften
9. Dr. E. Rost, Dr. Fr. Franz und Dr. R. Heise, Beiträge zur Photographie der Blutspektra, unter Berücksichtigung der Toxikologie der Ameisensäure. Mit 7 Tafeln.
10. Ergebnisse der amtlichen Weinstatistik. Berichtsjahr 1907/1908. Teil I. Weinstatistische Untersuchungen. Einleitung. Von Dr. A. Günther. Berichte der Untersuchungsanstalten, welche mit der Ausführung der weinstatistischen Untersuchungen betraut sind, gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte. — Teil II. Moststatistische Untersuchungen. Berichte der beteiligten Untersuchungsstellen, gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte.
11. Dr. R. Trommsdorff, Über biologische Eiweißdifferenzierung bei Ratten und Mäusen.
12. Dr. R. Trommsdorff, Über intravenöse Impfungen mit Menschen- und Rindertuberkelbazillen bei Mäusen.

Dreiunddreißigster Band. — Heft 1. Mit 5 Tafeln. — Preis M. 10,40.

1. Dr. E. Reichenow, Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Mit 2 Tafeln.
2. Dr. Manteufel, Studien über die Trypanosomiasis der Ratten mit Berücksichtigung der Übertragung unter natürlichen Verhältnissen und der Immunität.
3. Dr. P. Andrejew, Über das Verhalten von Normal- und Immunagglutininen bei Absorption und Filtration und beim Erhitzen — mit besonderer Berücksichtigung der Rotzagglutinine.
4. Dr. Ströse, Die Übertragung der Trichinen auf das Schwein.
5. Dr. W. Lange u. Dr. K. Poppe, Über den Einfluß des Stickstoffs auf die Haltbarkeit des Fleisches, nebst Beiträgen zur Bakteriologie der Fleischfäulnis.
6. Prof. Dr. Spitta u. Dr. A. Müller, Beiträge zur Frage des Wachstums und der quantitativen Bestimmung von Bakterien an der Oberfläche von Nährböden. Mit 1 Tafel.
7. Prof. Dr. Uhlenhuth u. Dr. P. Mulzer, Über experimentelle Kaninchensyphilis mit besonderer Berücksichtigung der Impfsyphilis des Hodens. Mit 2 Tafeln.
8. Prof. Dr. A. Schuberg u. Dr. P. Mulzer, Ein Sauger zur Entnahme von Saugserum.

Dreiunddreißigster Band. — Heft 2. Mit 4 Tafeln. — Preis M. 12,40.

1. Dr. K. Beck, Dr. Löwe und Dr. Stegmüller, Zur Kenntnis der bleihaltigen Glasuren und deren Bleiabgabe an saure Flüssigkeiten.
2. Prof. Dr. Zwick u. Dr. Weichel, Zur Frage des Vorkommens von sogenannten Fleischvergiftungserregern in Pökelfleischwaren.
3. Dr. Wolthe, Über eine neue Art von Reagenzglasgestellen für bakteriologische Zwecke.
4. Prof. Dr. Uhlenhuth und Dr. Manteufel, Neue Untersuchungen über die ätiologischen Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie (Diphtheria avium) und Geflügelpocken (Epithelioma contagiosum).
5. Dr. Manteufel, Beiträge zur Kenntnis der Immunitätserscheinungen bei den sogenannten Geflügelpocken.
6. Dr. H. Bohtz, Untersuchungen über die Desinfektion infizierten Düngers durch geeignete Packung.
7. Dr. P. Andrejew, Untersuchungen über die bakterielle Flora des Hammeldarms auf das Vorkommen von Bakterien der Hog-Choleragruppe.
8. Dr. P. Andrejew, Über das Verhalten von Antikörpern bei der Filtration durch Kieselgur.
9. Dr. K. Schern, Über das Verhalten verschiedener Stämme des Bacillus paratyphosus B. und des Bacillus enteritidis Gärtner in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon.
10. Prof. Dr. A. Schuberg, Über Microsporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne. Mit 4 Tafeln.
11. Dr. Brückner, Über Nachuntersuchungen bei Personen, die vor Jahren Typhus durchgemacht haben.
12. Dr. A. Müller, Über die Brauchbarkeit des Natriums taurocholicum als Zusatz zum Löfflerschen Malachitgrünagar.

Druck von E. Buchbinder in Neu-Ruppin.

Verlag von **Julius Springer** in **Berlin.**

9. Dr. Xylander, Desinfektionsversuche mit zwei neueren Formaldehydpräparaten Festoform und Formobor.
10. Dr. Hüne, Untersuchungen über Bakterizidie im Reagensglase.
11. Dr. W. Gaethgens, Erfahrungen über den Wert der Gruber-Widalschen Reaktion für die Typhusdiagnose.
12. Dr. W. Kerp u. Dr. E. Baur, Zur Kenntnis der gebundenen schwefligen Säuren. II. Abhandlung. — III. Abhandlung: Über glukoseschweflige Säure.
13. Dr. W. Kerp u. Dr. E. Baur, Über die elektrolytische Dissoziationskonstante der schwefligen Säure.
14. Dr. F. Stuhlmann, Beiträge zur Kenntnis der Tsetsefliege (*Glossina fusca* u. *Gl. tachinoides*). Mit 4 Tafeln.
15. Dr. M. Pleißner, Über die Löslichkeit einiger Bleiverbindungen im Wasser.
16. Dr. Ed. Polenske, Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten.
17. Dr. P. Waentig, Die Peroxydasereaktionen der Kuhmilch mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verwendung zum Nachweise stattgehabter Erhitzung der Milch.
18. Dr. Neufeld und Dr. Haendel, Beitrag zur Beurteilung der El Tor-Vibrionen.

Siebenundzwanzigster Band. — Mit 6 Tafeln und Abbildungen im Text. — **Preis M. 30,—.**

1. Ergebnisse der amtlichen Weinstatistik. Berichtsjahr 1905/1906. Teil I. Weinstatistische Untersuchungen. Einleitung. Von Dr. A. Günther. — Berichte der Untersuchungsanstalten, welche mit der Ausführung der weinstatistischen Untersuchungen betraut sind. Gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte. Teil II. Moststatistische Untersuchungen. Berichte der beteiligten Untersuchungsstellen, gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte.
2. Dr. Fr. Auerbach u. Dr. H. Barschall, Studien über Formaldehyd. II. Mitteilung. Die festen Polymeren des Formaldehyds.
3. Dr. Uhlenhuth und Dr. Groß, Untersuchungen über die Wirkung des Atoxyls auf die Spirillose der Hühner.
4. Dr. Uhlenhuth, Dr. Hübener und Dr. Woithe, Experimentelle Untersuchungen über Dourine mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. Mit 4 Tafeln.
5. Dr. R. Gonder, Atoxylversuche bei der Piroplasmose der Hunde.
6. Dr. F. Neufeld und Dr. Bickel, Über cytotoxische und cytotrope Serumwirkungen.
7. Dr. Manteufel, Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Rekurrensspirochaeten und ihrer Immunsera.
8. Dr. C. Schellack, Morphologische Beiträge zur Kenntnis der europäischen, amerikanischen und afrikanischen Rekurrensspirochaeten. Mit 1 Tafel.
9. Dr. Th. Carnwath, Zur Ätiologie der Hühnerdiphtherie und Geflügelpocken.
10. Dr. Th. Carnwath, Zur Technik der biologischen Untersuchung kleinster Blutspuren.
11. Dr. R. Gonder, Studien über die Spirochaete aus dem Blute von Vesperugo Kuhlii, Keys. u. Blas. (Natterer). Mit 1 Tafel.
12. Dr. F. Neufeld, Über die Ursachen der Phagocytose.
13. Dr. Uhlenhuth, Dr. Hübener, Dr. Xylander und Dr. Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest.

Achtundzwanzigster Band. — Mit 1 Tafel und Abbildungen im Text. — **Preis M. 21,80.**

1. Dr. R. Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 2. biologischen Untersuchung des Oberrheins auf der Strecke Basel-Mainz (30. April bis 12. Mai 1906).
2. Dr. Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 2. am 12. und vom 16. bis zum 22. Mai 1906 ausgeführten biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Weisenau-Mainz bis Coblenz-Niederwerth.
3. Dr. R. Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 3. biologischen Untersuchung des Oberrheins auf der Strecke Basel-Mainz vom 9. bis 22. August 1906.
4. Dr. Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 3. vom 15. bis zum 22. August 1906 ausgeführten biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis Coblenz.
5. Dr. F. Neufeld, Beitrag zur Kenntnis der Phagocytose und der Herkunft des Komplements.
6. Dr. R. Gonder, Beobachtungen über die endemische Lues in Bosnien.
7. Dr. Xylander, Der Ratinbazillus als Rattenvertilgungsmittel.
8. Dr. E. Levy und Dr. W. Gaehtgens, Über die Verbreitung der Typhusbazillen in den Lymphdrüsen bei Typhusleichen.
9. Dr. Manteufel, Untersuchungen über spezifische Agglomeration und Komplementbindung bei Trypanosomen und Spirochaeten.
10. Dr. F. Neufeld und Dr. Händel, Über Komplementbindung und Komplementablenkung bei 0° und bei 37°.
11. Dr. Schröder, Über den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Reisspelzen in Futtermitteln.
12. Dr. Fr. Franz u. Dr. G. Sonntag, Die Ausscheidung der schwefligen Säure beim Menschen in Versuchen mit schwefligsaurem Natrium und mit den Natriumsalzen gebundener schwefliger Säuren.
13. Gutachten des Reichsgesundheitsrates, betreffend die Verunreinigung der Orla und Kötschau durch gewerbliche Abwässer. Berichterstatter: Geh. Ober-Reg.-Rat Prof. Dr. v. Buchka; Mitberichterstatter: Geh. Medizinalrat, Ministerialrat Prof. Dr. Renk. (Mit 1 Tafel.)
14. Gutachten des Reichsgesundheitsrates über die Ableitung cyanhaltiger Abwässer der Zuckerraffinerie zu Dessau in die Elbe. Berichterstatter: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Rubner; Mitberichterstatter: Geh. Ober-Reg.-Rat Prof. Dr. v. Buchka.
15. Dr. Haendel, Zur Differenzierung der Ruhrbakterien mittels der Agglutination, der Komplementablenkung und der bakteriotropen Immunserumwirkung.
16. Dr. E. Baumann, Bazillenträger und Typhusverbreitung.
17. Dr. A. Hirschbruch, Die experimentelle Herabsetzung der Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus durch die Stoffwechselprodukte des Pyocyaneusbazillus.
18. Dr. Woithe, Eine Präzisionssaugvorrichtung für Meßpipetten.
19. Dr. H. Barschall, Über das Molekulargewicht des im Koniferenhonig vorkommenden Dextrins.
20. Dr. P. Rasenack, Über die Süßstoffe des Eupatorium Rebaudianum und des Süßholzes.
21. Dr. M. Pleißner, Eine neue Tauchelektrode.
22. Dr. Uhlenhuth, Dr. Weidanz und Dr. Wedemann, Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch.
23. Dr. O. Weidanz und K. Borchmann, Vergleichende Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Präzipitinreaktion und der Komplementbindungsmethode zum Nachweis von Pferdefleisch.
24. Dr. Hüne, Die Anwendung des biologischen Verfahrens zum Eiweißnachweis in Fettgewebe und ausgelassenem Fett (Schmalz).
25. Dr. Xylander und Dr. Woithe, Über eine neue Vorrichtung zur Gewinnung keimfreier Sera in größeren Mengen.
26. Dr. Haendel, Über Komplementablenkung durch Antivibrionen- und Antierythrocytensera.
27. Dr. Haendel, Über Komplementbindung durch hämolytische Ambozeptoren bei 0°.
28. Dr. R. Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 4. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Basel-Mainz (vom 14. bis 25. März 1907).
29. Dr. M. Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 4. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis unterhalb Coblenz vom 18. bis zum 25. März 1907.
30. Dr. F. Neufeld und Dr. Haendel, Beiträge zur Kenntnis der Wirkung verschiedener blutlösender Gifte, insbesondere des taurocholsauren Natriums und der Seife.
31. Dr. W. Wedemann, Toxikologische Versuche mit Atoxyl an zahmen Ratten.
32. Dr. Uhlenhuth, Dr. O. Weidanz und Dr. Angeloff, Über den biologischen Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten.

Neunundzwanzigster Band. — Mit 2 Tafeln und Abbildungen im Text. — **Preis M. 19,—.**

1. Ergebnisse der amtlichen Weinstatistik. Berichtsjahr 1906/1907. Teil I. Weinstatistische Untersuchungen. Einleitung. Von Dr. Adolf Günther. — Berichte der Untersuchungsanstalten, welche mit der Ausführung der weinstatistischen Untersuchungen betraut sind, gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte. Teil II. Moststatistische Untersuchungen. Berichte der beteiligten Untersuchungsstellen, gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte.
2. Dr. P. Kulisch, Über den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen. Unter Mitwirkung der Assistenten: Apotheker Kumpf, Dr. Hädrich und Dipl.-Ing. Killer. Nach einem Vortrage, gehalten am 2. Oktober 1907 gelegentlich der Beratungen der Kommission für die amtliche Weinstatistik in Konstanz.
3. Dr. Th. Paul und Dr. A. Günther, Untersuchungen über den Säuregrad des Weines auf Grund der neueren Theorien der Lösungen. 2. Abhandlung: Der Säuregrad verschiedener deutscher Weine und seine Beeinflussung durch Zusatz von Wasser und von Salzen.
4. Dr. Ed. Polenske, Nachtrag zu der Abhandlung „Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten".
5. Dr. Haller, Die Bindung von Komplement und Ferment durch spezifische und nichtspezifische Niederschläge und Suspensionen.
6. Dr. Xylander, Die Desinfektion von Büchern mittels feuchter heißer Luft und gesättigten, niedrig temperierten, unter Vakuum strömenden Formaldehydwasserdämpfen.
7. Dr. Xylander, Vitralin, eine desinfizierende Anstrichsfarbe.
8. Dr. Manteufel, Weitere Untersuchungen über Rückfallfieber.
9. Dr. Manteufel, Experimentelle Unter-

Fortsetzung auf Seite 4.

UNIVERSITY OF MICHIGAN
3 9015 06792 3014